



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
ÁREA DE BIOLOGÍA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

**LIPOPOLISACÁRIDOS DE BACTERIAS PERIODONTALES,
NEUROINFLAMACIÓN Y LA INDUCCIÓN DE FERROPTOSIS NEURONAL EN
EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS: UNA
REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA**

Carlos Felipe Dankert Soto

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTORA PRINCIPAL

Dra. Andrea Paula-Lima

TUTORA ASOCIADA

Silvia Gleitze, PhD

**Adscrito a Proyecto ICM P-09-01
Santiago - Chile
2023**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS
ÁREA DE BIOLOGÍA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

**LIPOPOLISACÁRIDOS DE BACTERIAS PERIODONTALES,
NEUROINFLAMACIÓN Y LA INDUCCIÓN DE FERROPTOSIS NEURONAL EN
EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS: UNA
REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA**

Carlos Felipe Dankert Soto

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**REVISIÓN SISTEMÁTICA CUALITATIVA
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTORA PRINCIPAL

Dra. Andrea Paula-Lima

TUTORA ASOCIADA

Silvia Gleitze, PhD

**Adscrito a Proyecto ICM P-09-01
Santiago - Chile
2023**

A mi tata Nano y mi tata Carlos

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer tremendamente a mi mamá y mi papá en primer lugar; quienes me dieron la vida, quienes siempre estuvieron ahí para ser mi refugio y mi hogar, para enseñarme y apoyarme de la mejor forma posible, especialmente con su amor. A mis hermanos Javier y Andrés, que son un pilar fundamental para mí, en quienes encuentro apoyo, compañía, escucha, consejo y sobre todo cariño. A mis abuelos Héctor “tata Nano” y Carlos, quienes estuvieron, están y siempre estarán conmigo, en mi corazón y en mis travesías. A mis abuelas Nancy y Carmen, la “Nona”, que me nutren con su cariño y amor incondicional; gracias por creer en mí. A mi tío y padrino Cristian, a mi tía Pame, a mis primos José, Coté, Fran, Pili, Flo y Vale; a mis amigos de la vida Tomás, Fernando, Javier, Lorenzo y Rodrigo que están siempre conmigo; los quiero mucho a todos. Y finalmente, un agradecimiento muy especial a Eva Luna, mi compañera, por ser un apoyo y compañía incondicional en todas las formas; gracias por enseñarme, ayudarme, aconsejarme, y por darme ese amor tan lindo que entregas, fiel reflejo de esa luz tan hermosa que eres, y que me enseña a amar y ver la vida de una forma nueva, diferente, auténtica y libre.

Tampoco puedo dejar de mencionar a quienes hicieron de la Universidad un lugar más grato, humano y divertido: mis amigos Christopher, Hazel, Caro, Wen e Iveth. Muchas gracias por todo su apoyo, compañía y paciencia estos años; son personas y amigos maravillosos, con quienes me quedo para la vida, a la cual le agradezco enormemente habernos encontrado y unido. Al grupo de los homúnculos, gracias por todos los buenos momentos y risas, por su apoyo y por esa amistad tan leal y real, que está ahí a pesar de la distancia y el tiempo. Gracias también a Carlitos, Maite y Sole, los mejores compañeros de box y amigos que pude tener la fortuna de encontrar.

Y por supuesto quiero agradecer a aquellos docentes en quienes sí encontré una calidad humana, académica, y una sonrisa que iluminaron mi perspectiva y motivación como estudiante, y quienes demuestran que se puede enseñar con cariño y empatía. Especialmente a la Dra. Andrea Paula-Lima, cuyo compromiso con sus estudiantes y la ciencia admiro enormemente, y a quien agradezco su guía.

Así, agradezco también al grupo de su Laboratorio, y particularmente a Silvia por toda su ayuda, consejo y tiempo para el desarrollo de este proyecto de investigación; eres una científica brillante, y admiro y valoro enormemente toda tu ayuda y trabajo. Finalmente, quiero destacar también a todos mis docentes clínicos y preclínicos, asistentes y funcionarios que sí dejaron en mí enseñanzas con empatía, cariño, y que me motivaron a creer en mí y en lo que puedo hacer; la lista es larga, pero los llevo en mi recuerdo, ya que ustedes nos ayudan a encender la llama en nosotros para crear un mundo más humano.

Agradezco en particular la formación con conciencia social, y el sentido público del cuidado del otro compartido por los docentes de la Universidad, lo que sin duda marcará el sentido de mi práctica profesional. En este sentido, quiero agradecer a mis tutores y al equipo del CESFAM Santa Amalia, por su grata acogida y compromiso con mi aprendizaje; y también a todo el personal del CECOSF Ayacara, que me recibió con cariño y calidez en lo desconocido, y que entre viajes y aventuras me enseñaron de las diferentes formas de vivir y entregar cuidados en el paraíso natural del sur de Chile, al cual le entrego profundo amor y admiración: a su flora, fauna y todas las especies que habitan este maravilloso ecosistema. Y especialmente quiero agradecer a Mami Lala, quien me acogió y con mucho cariño me entregó un hogar lejos de casa. Agradezco enormemente la oportunidad de vivir estas experiencias, y a mí el permitirme hacerlo.

Para concluir, estoy profundamente agradecido de todo el proceso que he vivido como estudiante de Odontología en nuestra Universidad. Proceso largo y complejo, no exento de momentos difíciles y turbulentos, ni de otros muy felices, reconfortantes y liberadores. Como la vida misma, con sus luces y sus sombras, ha sido una experiencia que de traumática y carente de motivación se transformó en una oportunidad de crecimiento, de creatividad, de cambio, de aprendizaje y de integración. Una oportunidad para hacer mío mi propio camino, a mi propio ritmo, con mis propios colores y melodías. Una oportunidad para tomar aquellas experiencias desagradables, injustas y con las que discrepo, y convertirlas en motivación para ser agente de cambio con la humildad y la confianza de ser quien soy.

ÍNDICE

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN	1
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Periodontitis	3
3.2 Lipopolisacáridos	4
3.3 Periodontitis y Enfermedad de Alzheimer	6
3.4 Periodontitis y Enfermedad de Parkinson	7
3.5 Ferroptosis	8
3.6 Ferroptosis y Enfermedades Neurodegenerativas	11
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	16
5. OBJETIVO GENERAL	16
6. METODOLOGÍA	17
6.1 Criterios de elegibilidad de estudios	17
6.2 Estrategias de búsqueda	18
6.2.1 <i>Búsqueda electrónica</i>	18
6.2.2 <i>Búsqueda de otras fuentes</i>	19
6.3 Recopilación de datos y análisis de los estudios	19
6.3.1 <i>Selección de estudios</i>	19
6.3.2 <i>Extracción de datos</i>	20
6.3.3 <i>Análisis del riesgo de sesgo de los artículos seleccionados</i>	20
7. RESULTADOS	21
7.1 Descripción de los estudios seleccionados	21
7.2 Análisis del riesgo de sesgo	36
7.3 Identificación de las vías de inducción de desregulación del metabolismo del hierro por LPS en cultivos celulares	43
7.4 Identificación de las vías de inducción de desregulación del metabolismo del hierro por LPS en animales	47
8. DISCUSIÓN	51
8.1 LPS, ferroptosis en neuronas y neurodegeneración	52
8.1.1 <i>La vía de la respuesta inflamatoria</i>	53
8.1.2 <i>La vía de la respuesta antioxidante</i>	54
8.1.3 <i>La vía de la S-nitrosilación</i>	55
8.1.4 <i>La vía IL-6/STAT3/hepcidina</i>	56
8.2 Periodontitis, LPS de periodontopatógenos y ferroptosis	59
8.3 Heterogeneidad de los estudios	63
8.4 Análisis de riesgo de sesgo	64
8.5 Limitaciones del estudio	64
9. CONCLUSIONES	66
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
11. ANEXOS Y APÉNDICES	93

1. RESUMEN

Introducción: La periodontitis es una enfermedad oral crónica inflamatoria que ha sido descrita como factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas asociadas al envejecimiento, como la enfermedad de Alzheimer. La neurodegeneración involucra muerte neuronal, que puede ocurrir por diferentes mecanismos. La ferroptosis, un tipo de muerte celular dependiente de hierro caracterizada por aumento de estrés oxidativo y peroxidación lipídica se ha asociado cada vez más con enfermedades neurodegenerativas, y puede ser inducida por estímulos inflamatorios como lipopolisacáridos. Estudios recientes han demostrado que lipopolisacáridos de bacterias periodontales pueden inducir ferroptosis en la periodontitis, lo que podría constituir un proceso común con la enfermedad de Alzheimer y explicaría su creciente asociación. Así, esta revisión sistemática tuvo como objetivo buscar evidencia de que los lipopolisacáridos de patógenos periodontales podrían participar el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas mediante inducción de ferroptosis en neuronas.

Metodología: Se realizó una búsqueda sistemática de estudios en las bases de datos MEDLINE/PubMed, Scopus, Web of Science y BVS/LILACS, y en la bibliografía de aquellos seleccionados según los criterios de elegibilidad, basado en el acrónimo PICO. Los datos fueron extraídos y analizados para evaluar su riesgo de sesgo mediante la herramienta SYRCLE.

Resultados: De 1.790 artículos fueron seleccionados 21, que mostraron una asociación entre la inflamación inducida por lipopolisacáridos y marcadores de ferroptosis en neuronas. Entre estos marcadores se encuentran el aumento del estrés oxidativo, agotamiento de glutatión, desregulación de proteínas transportadoras de hierro, acumulación de hierro y peroxidación lipídica. Se describieron diferentes vías de señalización celular involucradas: la respuesta inflamatoria, con énfasis en la vía IL-6/STAT3/hepcidina, la respuesta antioxidante, y la S-nitrosilación proteica, una modificación postraduccional regulada por especies reactivas de oxígeno que altera la función de proteínas. Si bien los artículos encontrados relacionan lipopolisacáridos con ferroptosis neuronal, hasta finalizada

esta revisión no se encontraron estudios que demostraran ferroptosis neuronal inducida específicamente por lipopolisacáridos de bacterias periodontales.

Conclusiones: Los estudios incluidos presentaron una asociación entre lipopolisacáridos e inducción de ferroptosis en neuronas. Sin embargo, se requiere verificar si los lipopolisacáridos periodontales pueden inducir ferroptosis en neuronas. Las vías de señalización analizadas permiten orientar investigaciones futuras para concluir si esta relación ocurre.

2. INTRODUCCIÓN

Entre las patologías más prevalentes de la cavidad oral humana encontramos la caries dental y las enfermedades periodontales. Una de ellas es la periodontitis, que está mediada por una disbiosis bacteriana y la desestabilización de la respuesta inmune del hospedero, generando una disrupción de la homeostasis tisular en el periodonto (Frencken y cols., 2017; Bernabe y cols., 2020; Hajishengallis y Lamont, 2021). La prevalencia mundial ajustada por edad de periodontitis severa (saco periodontal igual o mayor a 6 mm) fue de 9,8% en promedio para el año 2017, lo que representa un aumento de 5,8% desde 1990 (Bernabe y cols., 2020). Además, en países de ingresos medios-bajos estos datos alcanzan el máximo global, donde el mayor aumento de la prevalencia se registra en los países de bajos ingresos económicos, y la mayor disminución en los países con ingresos altos, cuya determinación fue realizada en el mismo periodo (James y cols., 2018; Bernabe y cols., 2020). Desafortunadamente, en Chile existen pocos estudios sobre la prevalencia de la periodontitis, y los que están disponibles presentan dificultades diagnósticas y metodológicas para una valoración confiable de estos datos, debido principalmente a las diferencias en las definiciones de caso (Carvajal, 2016). A pesar de esto, los datos disponibles hasta la fecha y que han sido utilizados por el Ministerio de Salud (MINSAL), indican que la prevalencia de la periodontitis (pérdida de inserción clínica mayor a 3 mm) sería de 93,45% y 97,58% para adultos y personas mayores, respectivamente (Gamonal y cols., 2010; Carvajal, 2016; MINSAL, 2017); mientras que para la periodontitis severa (pérdida de inserción clínica igual o mayor a 6 mm) se estima que la prevalencia sería de 58,3% y 81,4% para los mismos grupos etarios (Gamonal y cols., 2010; Carvajal, 2016). Es de esperar entonces, que por su prevalencia la periodontitis sea un problema de salud pública (Carvajal, 2016), que además afecta de manera muy importante la calidad de vida de las personas (Borges y cols., 2013; Buset y cols., 2016; Graziani y cols., 2019).

Las enfermedades neurodegenerativas, entre las que se encuentra la Enfermedad de Alzheimer (EA), son caracterizadas por la pérdida progresiva de la estructura y función neuronal (Paula-Lima y cols., 2013). Estas enfermedades se

han convertido en una prioridad mundial debido al envejecimiento de la población y la falta de tratamientos efectivos (Norton y cols., 2014; Ray Dorsey y cols., 2018). En este sentido, la prevalencia mundial de las enfermedades neurodegenerativas ha ido en aumento (Ray Dorsey y cols., 2018; Li y cols., 2022a), y se prevé que esta tendencia siga para el año 2050 (Nichols y cols., 2019). Las enfermedades neurodegenerativas presentan pérdida de las capacidades cognitivas y dependencia; y, por ende, la calidad de vida de las personas afectadas y de sus cuidadores se ve seriamente alterada, constituyendo un problema de salud pública global (Alzheimer's Association, 2014, 2022; Nichols y cols., 2022). La inflamación juega un papel fundamental en el inicio y la progresión crónica de estas enfermedades (Heneka y cols., 2015) e interesantemente, algunas enfermedades inflamatorias, como la periodontitis, pueden representar un factor de riesgo para las enfermedades neurodegenerativas.

La evidencia actual sugiere que existe una relación entre la periodontitis como factor de riesgo, y las enfermedades neurodegenerativas como la EA (Ide y cols., 2016; Ishida y cols., 2017; Teixeira y cols., 2017; Choi y cols., 2019; Dominy y cols., 2019). Por esta razón, se hace necesario indagar en todos los posibles mecanismos involucrados en esta relación. En los últimos años, la ferroptosis - una forma de muerte celular mediada por hierro – ha sido cada vez más implicada en las enfermedades neurodegenerativas (Belaidi y Bush, 2016; Yan y Zhang, 2020; Zhang y cols., 2020; Jakaria y cols., 2021; Wang y cols., 2022b). Recientemente se ha descrito que la ferroptosis también podría jugar un rol en el desarrollo de la enfermedad periodontal (Chen y cols., 2022), y que factores de virulencia relacionados con las bacterias periodontales podrían inducir procesos ferroptóticos en el cerebro (You y cols., 2017; Olsen, 2021; Liu y cols., 2023).

Por consiguiente, esta revisión sistemática de la literatura se centra en la búsqueda de la evidencia publicada hasta la fecha acerca de los **lipopolisacáridos de bacterias periodontales como inductores de ferroptosis en las neuronas del cerebro.**

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Periodontitis

La periodontitis es una enfermedad crónica multifactorial asociada con un biofilm bacteriano disbiótico. Entre sus características principales está la pérdida progresiva de los tejidos periodontales de soporte, que se manifiesta como pérdida del nivel de inserción clínica (CAL) y se observa radiográficamente como pérdida de hueso alveolar; además de la presencia clínica de sacos periodontales y sangrado gingival (Papapanou y cols., 2018; Hajishengallis y cols., 2020). La periodontitis puede llevar a la pérdida de dientes y con ello deteriorar la función masticatoria y la estética, afectando la calidad de vida de quienes la presentan. Todo esto, junto con su alta prevalencia, la convierte en un importante problema de salud pública, ya que participa en una gran parte del edentulismo y disfunción masticatoria, resulta en costos significativos en atención dental, y tiene un impacto negativo considerable en la salud general (Papapanou y cols., 2018).

El inicio y desarrollo de la periodontitis es multifactorial, y está relacionado principalmente con la microbiota local y la respuesta inmunológica del hospedero (Hajishengallis, 2014). En ella, las citoquinas desempeñan un papel muy importante al ser moduladores clave de la homeostasis y de los procesos inflamatorios (Pan y cols., 2019). Estudios experimentales en modelos animales de periodontitis han encontrado que la expresión alterada de las citoquinas y sus receptores afecta el fenotipo de pérdida de hueso alveolar (Alayan y cols., 2007; Eskin y cols., 2012). Esta respuesta inmune sobreactivada induce un aumento patológico de la actividad osteoclástica, y eventualmente la destrucción de los tejidos blandos y duros (Pan y cols., 2019).

Las citoquinas proinflamatorias involucradas en la periodontitis están representadas principalmente por las interleuquinas (IL)-1 β , IL-6, IL-17 y el factor de necrosis tumoral (TNF), las cuales son secretadas durante la periodontitis por diversas poblaciones celulares locales, además de tener efectos en la activación de linfocitos y la destrucción de tejidos (Pan y cols., 2019; Díaz-Zúñiga y cols., 2020; Xu y cols., 2020). Estas citoquinas participan además en la inducción de la resorción

ósea por la diferenciación y activación de osteoclastos mediante el aumento de la secreción del ligando del receptor activador del factor nuclear κ B (RANKL) de osteoblastos y osteocitos (Alvarez y cols., 2019; Kitaura y cols., 2020).

Así, este mecanismo que promueve la secreción de citoquinas proinflamatorias y de mediadores de resorción ósea, junto con la activación de metaloproteinasas de la matriz (MMP), resulta en la pérdida del hueso alveolar y del CAL como parte de la respuesta inmunológica del hospedero a la presencia de una microbiota oral disbiótica durante la enfermedad periodontal (Xu y cols., 2020). En ella, la colonización por parte de patógenos claves o *keystone* como *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), eleva la patogenicidad de la comunidad bacteriana presente en el biofilm, induce una disbiosis y con ello la pérdida de la homeostasis local, gracias a sus factores de virulencia (Hajishengallis y Lamont, 2012; Hajishengallis y cols., 2012; Alvarez y cols., 2019; Pan y cols., 2019; Díaz-Zúñiga y cols., 2020; Xu y cols., 2020).

Adicionalmente, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), un periodontopatógeno Gram (-) al igual que *P. gingivalis*, es un microorganismo que está presente en las formas más agresivas de periodontitis, y ha sido descrito como un potente inmunoregulador del sistema de defensa periodontal del hospedero y la homeostasis del hueso alveolar (Herbert y cols., 2016). Se ha observado que *A. actinomycetemcomitans* presenta una mayor inmunogenicidad que *P. gingivalis* (Vernal y cols., 2008), y que ambas bacterias presentan diversos factores de virulencia que inducen una disbiosis en la microbiota periodontal, junto con los procesos inflamatorios antes mencionados. Entre sus factores de virulencia se ha estudiado principalmente la cápsula, las fimbrias, las gingipainas, y los lipopolisacáridos (LPS) (Herbert y cols., 2016; Xu y cols., 2020).

3.2 Lipopolisacáridos

El LPS ha sido identificado como un patrón molecular asociado a patógenos (PAMP), y es un componente mayor de la membrana externa de la pared celular de bacterias Gram (-) como *Escherichia coli* (*E. coli*) y *P. gingivalis*. Es conocido por su

toxicidad y por su habilidad para generar respuestas inmunes no deseadas en el hospedero (Xu y cols., 2020). Está compuesto por un lípido A, un oligosacárido central, y un polisacárido O-específico en su porción más externa (Schromm y cols., 2000). La estructura del lípido A difiere entre cada especie, lo que podría explicar los distintos mecanismos de reconocimiento del hospedero para cada una de ellas (Dixon y Darveau, 2005; Xu y cols., 2020). El lípido A genera una respuesta inflamatoria en las células del hospedero, creando un ambiente favorable para la existencia de estos patógenos y finalmente la progresión de la enfermedad periodontal (Herath y cols., 2013). De este modo, las propiedades de virulencia del LPS de *P. gingivalis* están dadas por las diferencias en la estructura de este lípido A, el cual puede presentar múltiples formas dentro de la misma especie, las cuales determinan la unión y activación de su LPS a TLRs específicos (Darveau y cols., 2004; Herath y cols., 2011, 2013; Xu y cols., 2020). Si bien el LPS de *P. gingivalis* es similar al de *E. coli*, el de la bacteria periodontal posee dos variaciones: penta-acilación (LPS₁₆₉₀), que es un agonista débil del receptor tipo toll (TLR)-4, y tetra-acilación (LPS_{1435/1449}), que es agonista de TLR2 y antagonista de TLR4 (Curtis y cols., 2011; Blasi y cols., 2016; Xu y cols., 2020). En este sentido, se ha observado que LPS_{1435/1449} estimula la expresión de TLR2 en fibroblastos gingivales humanos (HGF), mientras que LPS₁₆₉₀ lo hace en menor medida. Por otro lado, LPS₁₆₉₀ aumenta significativamente la expresión de TLR4 en HGF, mas no así LPS_{1435/1449}, el cual es un antagonista de TLR4 (Darveau y cols., 2004; Herath y cols., 2011; Xu y cols., 2020). De este modo, se activan distintas vías de señalización, y se inician así respuestas inmunológicas diferenciales (Xu y cols., 2020).

No obstante, la principal vía de señalización activada por el LPS de *P. gingivalis* aún es controversial, debido a que se ha observado la activación tanto de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) TLR4, como de TLR2 (Darveau y cols., 2004; Xu y cols., 2020). Se ha observado también que TLR2 es el principal receptor activado por el LPS de *P. gingivalis* en macrófagos (Holden y cols., 2014). Dichos macrófagos pueden expresar un fenotipo específico llamado M2, asociado a supresión de la respuesta inflamatoria, remodelación de tejidos, baja secreción de citoquinas proinflamatorias y óxido nítrico (NO), y mayor secreción de citoquinas antiinflamatorias como IL-10; o bien un fenotipo M1, asociado a mayor secreción de

citoquinas proinflamatorias y NO, inducción y mediación de la respuesta inmune, y producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) (Ho y Sly, 2009; Galli y cols., 2011; Holden y cols., 2014).

Los macrófagos polarizados con el fenotipo proinflamatorio M1 están asociados a una mayor sensibilidad al LPS de *P. gingivalis*, incluso en bajas dosis, ya que se ha comprobado que aumenta la secreción de las citoquinas proinflamatorias IL-1 β e IL-6, y que aumenta la secreción de TNF α en mayor medida que el LPS de *E. coli* a igual concentración, mediante la activación de TLR2 en macrófagos M1 (Holden y cols., 2014; W. Xu y cols., 2020).

En resumen, los LPS de bacterias periodontales presentan una gran capacidad para inducir procesos inflamatorios mediante la activación de las células del sistema inmune a nivel local gracias a la activación de TLR2 y 4, lo cual genera un ambiente proinflamatorio en las células y los tejidos por la secreción de citoquinas proinflamatorias.

3.3 Periodontitis y Enfermedad de Alzheimer

En el último tiempo, ha surgido un número creciente de evidencia que respalda una asociación entre la periodontitis y la EA (Ide y cols., 2016; Teixeira y cols., 2017; Ilievski y cols., 2018; Choi y cols., 2019; Díaz-Zúñiga y cols., 2019; Hu y cols., 2020; Xue y cols., 2020; Qian y cols., 2021). La EA, la forma de demencia más común en el mundo, es una enfermedad neurodegenerativa progresiva y mortal caracterizada por la pérdida de la memoria. La hipótesis más aceptada para explicar su patogénesis es la de la cascada amiloide (Paula-Lima y cols., 2013; Heneka y cols., 2015; Jakaria y cols., 2021).

La hipótesis de la cascada amiloide describe una acumulación del péptido β -amiloide (A β), la cual induce una respuesta inflamatoria microglial M1 que activa los astrocitos, causando un desequilibrio energético, metabólico y oxidativo que lleva a la hiperfosforilación de la proteína Tau asociada a microtúbulos en neuronas (Heneka y cols., 2015). Este ambiente inflamatorio, donde las microglías activadas y los astrocitos reactivos producen activamente mediadores proinflamatorios,

aumenta a su vez la producción de A β ; su acumulación causa la hiperfosforilación de Tau, lo que constituye uno de los marcadores histopatológicos de EA (Paula-Lima y cols., 2013). La proteína Tau hiperfosforilada forma ovillos neurofibrilares, que son agregados intraneuronales de filamentos helicoidales de esta proteína, mientras que el otro marcador histopatológico, las placas seniles, son agregados extracelulares compuestos principalmente de A β , rodeados de neuritas distróficas, microglías activadas y astrocitos reactivos (Paula-Lima y cols., 2013).

Estos hallazgos han dado soporte a la “hipótesis de la neuroinflamación”, que enfatiza a las enfermedades sistémicas crónicas de naturaleza inflamatoria como factores de riesgo significativos para la EA (Heneka y cols., 2015). En este contexto, estudios experimentales relacionan la generación de moléculas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF α en neuroglías de la corteza cerebral con el deterioro cognitivo en ratones, indicando que las endotoxinas de periodontopatógenos como el LPS de *P. gingivalis* podrían representar un factor de riesgo para el deterioro cognitivo (Teixeira y cols., 2017; Zhang y cols., 2018; Qian y cols., 2021).

3.4 Periodontitis y Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más prevalente asociada a la edad (Belaidi y Bush, 2016; Do Van y cols., 2016; Batista y cols., 2019). Se manifiesta clínicamente como disfunción motora, rigidez y bradiquinesia, que pueden estar acompañadas de deterioro cognitivo y demencia en las etapas más tardías (Belaidi y Bush, 2016; Batista y cols., 2019; Masaldan y cols., 2019). El principal marcador histopatológico de la EP es la agregación de la proteína α -sinucleína en forma de inclusiones citoplasmáticas conocidas como cuerpos de Lewy, los que se asocian a una pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *substantia nigra* (SN), específicamente en una región productora de dopamina (DA) y rica en hierro conocida como *pars compacta* (SNpc), lo que genera un deterioro del sistema dopaminérgico y de las funciones motoras (Belaidi y Bush, 2016; do Van y cols., 2016; Batista y cols., 2019; Masaldan y cols., 2019; van Vuuren y cols., 2021). Interesantemente, se ha visto que la neuroinflamación puede inducir esta patología, específicamente mediante el uso de

LPS, la subsecuente activación microglial y astrocítica, y la secreción de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-1 β y TNF α , lo cual ha sido validado por modelos experimentales de la EP (Batista y cols., 2019).

En este contexto, algunos grupos de investigación se encuentran actualmente estudiando la asociación entre esta enfermedad y la periodontitis, aunque hasta ahora no existen resultados concluyentes (Olsen y cols., 2020). Interesantemente, se asociaron numerosos genes y proteínas que están involucradas tanto en la periodontitis como en la EP, como los genes tirosina hidroxilasa (TH) y SLC6A3, y la interacción entre las proteínas APOE y ABCA1 (Botelho y cols., 2020; Hu y cols., 2022; Wang y cols., 2022c); mientras que otras revisiones de bases de datos y estudios clínicos observaron una asociación débil o no concluyente (Botelho y cols., 2021; Fleury y cols., 2021; Jeong y cols., 2021; Lyra y cols., 2022). Sin embargo, lo que sí se ha podido demostrar es que la alta prevalencia de periodontitis en pacientes con EP se debe a que el deterioro y disfunción motoras dificulta los hábitos de higiene oral y empeora el estado de salud periodontal (Lyra y cols., 2020).

La EP, así como la EA, es una enfermedad neurodegenerativa asociada a la edad con neuroinflamación y agregación anormal de proteínas, que comparte un fuerte componente inflamatorio al igual que con la periodontitis. Sin embargo, se requiere indagar en todos los posibles mecanismos involucrados para esclarecer una posible asociación entre la EP y esta enfermedad periodontal.

3.5 Ferroptosis

La muerte celular de las neuronas juega un rol crucial en enfermedades neurodegenerativas como en la EA y EP; sin embargo, a pesar de décadas de investigación, los mecanismos subyacentes a la muerte neuronal no se conocen completamente aún (Chi y cols., 2018; Moujalled y cols., 2021). Recientemente, en la literatura científica ha emergido un número creciente de evidencia que sustenta el papel de la desregulación del metabolismo del hierro a nivel intracelular como un factor crucial en el inicio y progresión de enfermedades neurodegenerativas como

la EA y la EP (Urrutia y cols., 2014; Belaidi y Bush, 2016; Yan y Zhang, 2020; Gleitze y cols., 2021). Debido a la capacidad del hierro de aceptar y donar electrones mediante la reacción de Fenton y, por lo tanto, contribuir a la producción de ROS, una sobrecarga de hierro puede ser tóxica para la célula, ya que los niveles excesivos de ROS pueden dañar las proteínas celulares, ácidos nucleicos y lípidos (Halliwell, 2006). En consecuencia, se ha descrito que la acumulación de hierro, así como el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, están asociados con muchos trastornos neurodegenerativos y se correlacionan con una disminución de las funciones cognitivas y la progresión de la enfermedad (Praticò y Sung, 2004; Berg y Youdim, 2006; Smith y cols., 2010; Ayton y cols., 2020). Curiosamente, la desregulación del hierro y la oxidación de lípidos son características clave de un nuevo mecanismo de muerte celular llamado ferroptosis (Dixon y cols., 2012; Chen y cols., 2020; Mao y cols., 2020; Gleitze y cols., 2021).

La ferroptosis es una forma de muerte celular programada dependiente de hierro caracterizada por la acumulación de peróxidos lipídicos, estrés oxidativo, agotamiento del antioxidante endógeno glutatión (GSH), cambios morfológicos de la mitocondria y actividad aumentada de la enzima lipoxigenasa (LOX) (Dixon y cols., 2012; Belaidi y Bush, 2016; Mao y cols., 2020; Jakaria y cols., 2021). Existe una gran variedad de proteínas involucradas en el control de la ferroptosis por su acción sobre el metabolismo del hierro y la peroxidación lipídica. Entre ellas, la enzima glutatión peroxidasa (GPX4) juega un papel clave en la regulación de la ferroptosis por su capacidad única para reducir los peróxidos lipídicos de manera GSH dependiente (Chen y cols., 2020; Tang y Kroemer, 2020; Shi y cols., 2021). La ferroptosis puede ser activada por una vía extrínseca (tipo 1), que involucra el aumento de la actividad de los transportadores de hierro o la inhibición del sistema antiporte de aminoácidos X_c^- ; o por una vía intrínseca (tipo 2), en la que hay una disminución en las concentraciones de GSH o de la actividad de las enzimas antioxidantes como GPX4 (**Figura 1**) (Tang y Kroemer, 2020; Jakaria y cols., 2021).

La vía extrínseca es comúnmente iniciada por compuestos como erastina, glutamato o sorafenib, los cuales inhiben el sistema antiporte glutamato/cisteína X_c^- , resultando en un agotamiento de la cisteína intracelular necesaria para la

biosíntesis de GSH y, en consecuencia, en una reducción de las concentraciones de GSH (Dixon y cols., 2014; Yang y Stockwell, 2016; Chen y cols., 2020; Tang y Kroemer, 2020; Shi y cols., 2021; Yuan y cols., 2021). Mientras que la vía intrínseca puede ser inducida usualmente por el reactivo letal Ras-selectivo 3 (RSL3), que inhibe la actividad de la GPX4, lo que incrementa los productos de la peroxidación lipídica que alteran la estructura de la bicapa lipídica de la membrana celular, induciendo muerte celular (**Figura 1**) (Seiler y cols., 2008; Yang y cols., 2014; Yang y Stockwell, 2016; Tang y Kroemer, 2020).

Además, la desregulación de las proteínas transportadoras de hierro como el receptor de transferrina 1 (TfR1), el transportador de metales divalentes 1 (DMT1) y la proteína reguladora de hierro 2 (IRP2), está implicada en la muerte celular ferroptótica por el aumento del ingreso de hierro a la célula (Tang y cols., 2018; Li y cols., 2020). Adicionalmente, la ferritinofagia, un proceso mediante el cual los lisosomas degradan la proteína almacenadora de hierro ferritina, y que es dependiente de un receptor cargo selectivo conocido como receptor coactivador nuclear 4 (NCOA4), produce un incremento en el pool del hierro lábil (LIP) y, por ende, ha sido asociado con la inducción de ferroptosis y con la neurodegeneración (Hou y cols., 2016; Tang y cols., 2018; Del Rey y Mancias, 2019).

Por otro lado, distintos agentes farmacológicos han sido utilizados para inhibir la ferroptosis, tanto a nivel del metabolismo del hierro como es el caso del quelante de hierro deferoxamina (DFO), como a nivel de las ROS lipídicas como ocurre con liproxstatina-1 y ferrostatina-1 (Dixon y cols., 2012; Yang y Stockwell, 2016; Chen y cols., 2020; Jiang y cols., 2021).

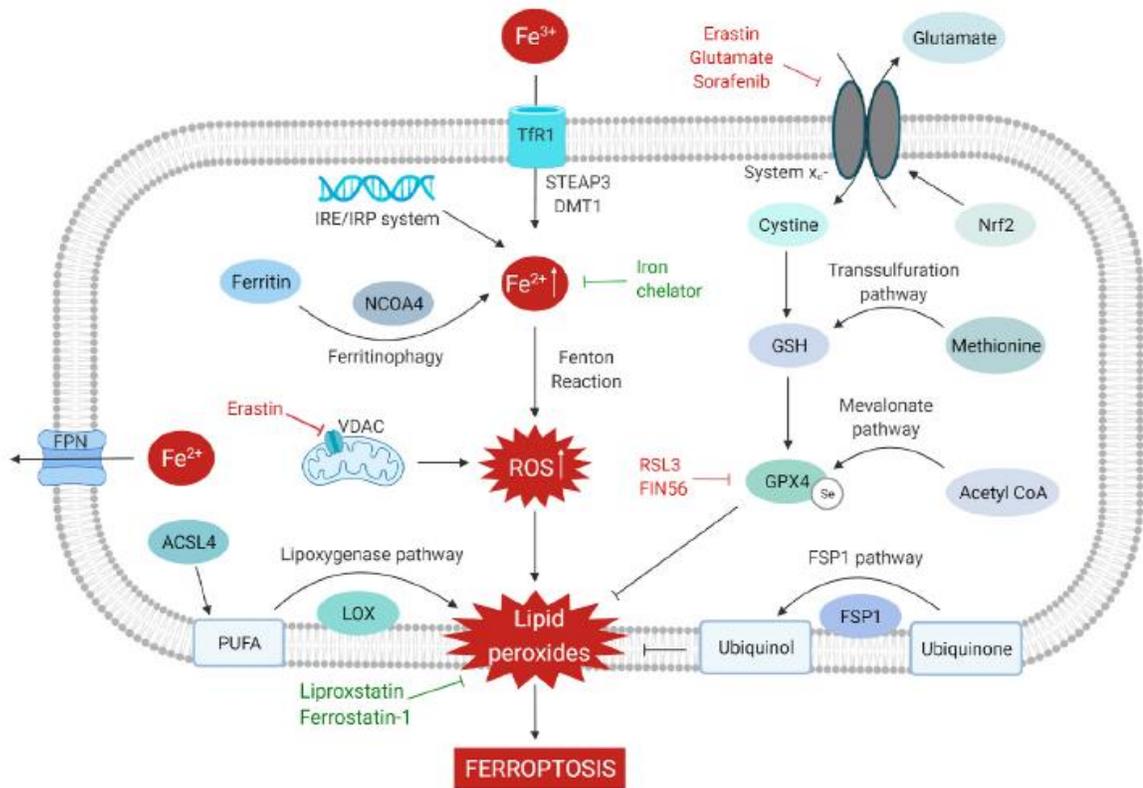


Figura 1. Vías de señalización involucradas en la ferroptosis. La ferroptosis puede ser inducida por dos vías principales: la vía extrínseca o dependiente transportes (por ejemplo, la inhibición del sistema antiporte X_c^- , o la activación de transportadores de hierro) y la vía intrínseca o dependiente de enzimas (por ejemplo, la disminución de la concentración de GSH o de la actividad de enzimas antioxidantes como GPX4). El ingreso de hierro (Fe^{3+}) al citoplasma es mediado por Tfr1. En el citoplasma, el hierro (Fe^{2+}) induce la generación de ROS, específicamente radicales hidroxilos, mediante la reacción de Fenton, que promueve la peroxidación lipídica, o actúa como un cofactor en la vía de la LOX; ambas vías inducen la acumulación de peróxidos lipídicos y resultan en la muerte celular ferroptótica. Los inductores e inhibidores de ferroptosis se muestran en rojo y verde, respectivamente. DMT1: Transportador de Metales Divalentes 1; STEAP3: Antígeno Prostático Epitelial 6-Transmembrana 3; IRE: Elemento Sensible a Hierro; IRP: Proteína Reguladora de Hierro; NCOA4: Receptor Coactivador Nuclear 4; VDAC: Canal Aniónico Dependiente de Voltaje; FPN: Ferroportina; ACSL4: Miembro de la Familia de la Cadena Larga de Acil-CoA Sintetasa 4; PUFA: Ácidos Grasos Poliinsaturados; NRF2: Factor 2 Relacionado con el Factor Nuclear Eritroide 2; GSH: Glutación; Se: Selenio; FSP1: Proteína Supresora de Ferroptosis 1; RSL3: Reactivo Letal Ras-selectivo 3; FIN56: Inductor de Ferroptosis 56 (Gleitze y cols., 2021).

3.6 Ferroptosis y Enfermedades Neurodegenerativas

Como se abordó anteriormente, la evidencia reciente sugiere que la ferroptosis es una forma de muerte celular significativa en varias patologías neurodegenerativas (Belaidi y Bush, 2016; Del Rey y Mancias, 2019; Gleitze y cols., 2021; Jakaria y cols., 2021), ya que las ROS y el estrés oxidativo (Bhatt y cols., 2020), la acumulación de hierro, la reducción de los niveles de GSH y GPX4, y el

incremento de la peroxidación lipídica han sido observadas en una gran cantidad de procesos neurodegenerativos (Ward y cols., 2014; Belaidi y Bush, 2016; Tang y cols., 2018; Del Rey y Mancias, 2019; Masaldan y cols., 2019; Li y cols., 2020; Gleitze y cols., 2021; Jakaria y cols., 2021).

Interesantemente, estudios experimentales realizados en ratones *knockout* para GPX4 mostraron desregulación del hierro, peroxidación lipídica elevada demostrada por un aumento en los niveles de los productos proteicos de 4-hidroxinonal (4-HNE), e inflamación, junto con disfunción conductual y neurodegeneración del hipocampo (Hambright y cols., 2017). En esta misma línea, se ha observado una acumulación de metales como Fe^{2+} en la proximidad de los agregados de A β y Tau, y se ha establecido que además de generar ROS, promueven la agregación de A β y la fosforilación de Tau (Belaidi y Bush, 2016; Bhatt y cols., 2020). Interesantemente, otro estudio también describió que los agregados de A β se co-localizan con el hierro, generando ROS (Huang y cols., 1999; Thirupathi y Chang, 2019) que propician la peroxidación lipídica en la membrana plasmática y aumentan la producción de 4-HNE, subproducto de la peroxidación lipídica que ocurre durante la ferroptosis (Mark y cols., 1997; Reed y cols., 2009). La unión de 4-HNE a proteínas altera sus funciones en la comunicación neuronal, el metabolismo energético y los mecanismos de defensa antioxidantes (Reed y cols., 2009). Además de lo antes descrito, la ferroptosis está caracterizada por una morfología mitocondrial alterada, como la ruptura de la membrana externa, disminución del volumen mitocondrial, y densidades condensadas de su membrana (Gao y cols., 2019; Wang y cols., 2020). Esto se asocia al deterioro mitocondrial, el cual posee un papel fundamental en los procesos de neurodegeneración (Monzio Compagnoni y cols., 2020).

Antes de la aparición del concepto de ferroptosis el año 2012 (Dixon y cols., 2012), se realizó un estudio clínico en pacientes con EA que concluyó que el uso del quelante de hierro DFO ralentiza la progresión de los signos clínicos de EA, en relación con aquellos que se les administró un placebo o que no recibieron tratamiento (Crapper McLachlan y cols., 1991). Mientras, en la evidencia reciente, son cada vez más los estudios que demuestran una posible participación de la

ferroptosis en el inicio y progresión de la EA mediante la observación de distintos marcadores de ferroptosis en modelos de EA. En este sentido, se ha observado una sobrecarga de hierro en el cerebro de pacientes con EA (Smith y cols., 2010; Abdalkader y cols., 2018; Yan y Zhang, 2020), disfunción mitocondrial (P. J. Urrutia y cols., 2014), niveles elevados de peroxidación lipídica en tejido cerebral de pacientes con EA (Bradley-Whitman y Lovell, 2015; Abdalkader y cols., 2018; Qu y cols., 2020), y reducción de los niveles de GSH y de la actividad de GPX4, considerada la principal reguladora de ferroptosis (Yan y Zhang, 2020) y cuyo agotamiento se relaciona con deterioro cognitivo y neurodegeneración (Fernández-Mendivil y cols., 2021). En la misma línea, los niveles de ferritina en el líquido cerebroespinal (CSF) sirven como un marcador predictivo para EA (Ayton y cols., 2015); y el incremento en la peroxidación lipídica se correlaciona positivamente con una declinación en las funciones cognitivas en EA (Praticò y Sung, 2004). Además de esto, se ha reportado tanto en modelos de EA como en humanos y ratones seniles, una desregulación del factor de transcripción de la respuesta antioxidante conocido como factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2), que regula positivamente la expresión de la subunidad xCT del sistema X_c^- y los niveles de GSH, aumenta la secreción de glutamato, reduce la sensibilidad celular a la ferroptosis, y presenta como blanco a los genes Nqo1, que codifica para NAD(P)H quinona oxidoreductasa 1 (NQO1) y HMOX1 que codifica para hemoxigenasa 1 (HO-1), entre otros (Qiang y cols., 2020; Qu y cols., 2020; Song y Long, 2020). Todos estos numerosos antecedentes nos llevan a considerar a la ferroptosis como una vía de interés importante para el entendimiento del inicio, progresión y blancos terapéuticos de la EA, estrechamente relacionada con la generación de ROS (Yan y Zhang, 2020).

Por otra parte, distintos estudios han demostrado que la ferroptosis ocurre en el desarrollo de la EP. En un estudio experimental, se observó la inducción de ferroptosis tras la administración de citrato de amonio férrico (FAC) en ratones y en una línea celular dopaminérgica, de forma separada de la apoptosis en etapas más iniciales de esta enfermedad (Zhang y cols., 2020). Otro estudio demostró la presencia de ferroptosis en modelos experimentales *in vivo* e *in vitro* de EP, la cual pudo ser inhibida por ferrostatina-1 (do Van y cols., 2016). Además, se ha visto que

la participación de la ferroptosis en esta enfermedad puede estar relacionada con marcadores comunes, como el aumento del estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, la disminución de GSH, y la acumulación de hierro lábil, lo cual a su vez está asociado con un aumento en la agregación de α -sinucleína, que presenta un elemento sensible a hierro (IRE) en su ARNm que aumenta su traducción, por lo que la interacción entre el hierro y α -sinucleína podrían ser una vía común entre la ferroptosis y la EP (Guiney y cols., 2017). La inflamación, mediante la acción de citoquinas proinflamatorias, también participa en la desregulación del metabolismo del hierro aumentando los niveles de DMT1 y disminuyendo los del exportador de hierro ferroportina 1 (Fpn1), resultando en acumulación de hierro (Urrutia y cols., 2013; Wang y cols., 2013). Esta acumulación de hierro relacionada con la desregulación de las proteínas asociadas a su metabolismo como Fpn1 y DMT1, la generación de estrés oxidativo y peroxidación lipídica, y la interacción entre el hierro y la síntesis y agregación de α -sinucleína fundamentan la participación de la ferroptosis en el desarrollo de la EP (Guiney y cols., 2017; Masaldan y cols., 2019).

3.7 LPS, ferroptosis y la neurodegeneración

Interesantemente, se ha observado que un factor que puede inducir procesos ferroptóticos en células del sistema nervioso central (CNS) es la inflamación, y específicamente aquella estimulada por la acción de LPS (Mao y cols., 2020; Fernández-Mendivil y cols., 2021). En este sentido, se ha demostrado que estímulos inflamatorios como LPS inducen la síntesis de hepcidina, una hormona peptídica antimicrobial que inhibe al único exportador de hierro Fpn1 mediante su internalización y degradación (Nemeth y cols., 2004; Wang y cols., 2008; Urrutia y cols., 2013). Al ser un regulador negativo de la liberación de hierro, la hepcidina representa un papel clave en la homeostasis del hierro ante estímulos inflamatorios (Nemeth y cols., 2004; You y cols., 2017). Si bien esta hormona es expresada predominantemente en el hígado, se ha detectado en distintas regiones del cerebro como la corteza y el hipocampo (Zechel y cols., 2006; You y cols., 2017), donde se ha demostrado que genera una sobrecarga de hierro resultante de la disminución

de Fpn1 por inyección lateral cerebral ventricular de hepcidina en ratones (Wang y cols., 2010; You y cols., 2017).

Concordantemente, en modelos experimentales se ha demostrado que el LPS induce una respuesta proinflamatoria en microglías de corteza e hipocampo murinos, las cuales mediante la secreción de mediadores proinflamatorios como TNF α e IL-6 activan el eje IL-6/STAT3 en astrocitos, en el cual la señalización de IL-6 resulta en la fosforilación del factor transductor de señal activador de transcripción 3 (STAT3), que promueve la transcripción del gen que codifica para hepcidina (You y cols., 2017). Esto se traduce en un aumento en la expresión de hepcidina que resulta en una acumulación intracelular de hierro en neuronas por inhibición de Fpn1, causando la muerte de las neuronas (You y cols., 2017). Esta expresión aumentada de hepcidina también se ha visto en neuronas mediante la activación del eje IL-6/STAT3 por la inflamación microglial inducida por LPS (Wang y cols., 2008; Qian y cols., 2014); sin embargo, la sensibilidad a LPS e IL-6 de las neuronas en cuanto a la expresión de hepcidina pareciera ser menor que en astrocitos (Ma y cols., 2018).

Estas observaciones se ven respaldadas por otros estudios experimentales en ratones donde se vio que el LPS provoca una desregulación de los mecanismos de homeostasis del hierro a través de la vía Nrf2/HO-1 de microglías, generando un aumento del LIP, lo que a su vez desencadena estrés oxidativo, ferroptosis y deterioro cognitivo (Fernández-Mendivil y cols., 2021). Este proceso se vio acompañado de un fenotipo proinflamatorio en microglías, de manera similar a lo observado en la neuroinflamación inducida por el LPS de *A. actinomycetemcomitans* mediante la activación de los receptores TLR2 y/o TLR4, activando el desarrollo de un fenotipo microglial proinflamatorio M1 y, por ende, un aumento en la producción de IL-1 β , IL-6 y TNF α (Díaz-Zúñiga y cols., 2019), lo que permitiría asociar elementos en común con la neuroinflamación inducida por LPS de origen periodontal.

Por otra parte, el LPS de *P. gingivalis* genera disfunción mitocondrial, producción aumentada de ROS y estrés oxidativo en fibroblastos (Bullon y cols., 2011). Interesantemente, un aumento prolongado de ROS puede generar

agotamiento de la vía antioxidante cisteína-GSH-GPX4 (Dixon y Stockwell, 2014; Yang y cols., 2014; Stockwell y cols., 2017; Amaral y cols., 2019; Gao y cols., 2019; Zhu y cols., 2019; Mao y cols., 2020); una vía crucial de la muerte ferroptótica (Yan y Zhang, 2020). En adición, se ha visto que los efectos negativos del LPS sobre el deterioro cognitivo, la acumulación de hierro y la neuroinflamación en el hipocampo se ven atenuados por el quelante de hierro DFO, el cual podría tener un efecto neuroprotector ante la neuroinflamación inducida por LPS (Zhang y cols., 2015). Esto se hace de especial interés cuando consideramos la evidencia que demuestra la presencia de *P. gingivalis* en CSF y cerebro de pacientes con EA, específicamente en hipocampo y corteza, acompañado de un aumento del estrés oxidativo y de marcadores de EA (Dominy y cols., 2019; Parra-Torres y cols., 2021).

En este contexto, donde ya conocemos la relación entre la periodontitis como enfermedad crónica inflamatoria y la EA, y a la ferroptosis como posible mecanismo involucrado en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, al mismo tiempo que ambas enfermedades han sido estrechamente relacionadas con la generación excesiva de ROS/RNS, nos planteamos la siguiente pregunta:

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Pueden los lipopolisacáridos de las bacterias Porphyromonas gingivalis o Aggregatibacter actinomycetemcomitans presentes en la periodontitis participar en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas mediante la inducción de ferroptosis en neuronas en el cerebro?

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar, mediante el análisis cualitativo de la literatura disponible, si los lipopolisacáridos de los periodontopatógenos *P. gingivalis* o *A. actinomycetemcomitans* pueden inducir ferroptosis en neuronas, estableciendo así la participación de este mecanismo en la relación existente entre las enfermedades neurodegenerativas y la periodontitis.

6. METODOLOGÍA

El presente estudio consiste en una revisión sistemática cualitativa, la cual se elaboró siguiendo el diagrama de flujo de la Declaración de Ítems Preferidos para Reportes para Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis (PRISMA) de 2020 (Page y cols., 2021), para responder a nuestra pregunta de investigación en base a la estructura PICO_R:

- **Población (P):** Cultivos y/o líneas celulares de cerebro, modelos animales para experimentación y humanos.
- **Intervención (I):** Exposición a periodontopatógenos como *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, o a LPS.
- **Comparación (Co):** Cultivos y/o líneas celulares de cerebro, modelos animales para experimentación y humanos no expuestos a periodontopatógenos ni LPS, o que no expresan marcadores o vías de señalización de neuroinflamación, de ferroptosis o de la respuesta antioxidante.
- **Resultado (R):** Secreción de mediadores proinflamatorios, secreción de hepcidina, acumulación de hierro, generación de ROS, peroxidación lipídica, desarrollo de ferroptosis en neuronas asociado a neurodegeneración y sus marcadores celulares y moleculares respectivos.

6.1 Criterios de elegibilidad de estudios

Criterios de inclusión: estudios experimentales *in vivo* e *in vitro*, ensayos clínicos, estudios observacionales de cohorte y de caso y control, reportes de casos y literatura gris, que incluyan palabras clave y cumplan con los criterios de búsqueda. No hubo límite de año para la inclusión de estudios, y fueron seleccionados estudios en idioma inglés, español y portugués.

Criterios de exclusión: estudios que involucren neuroinflamación no inducida por LPS, estudios que involucren ferroptosis en células o tejidos distintos

a aquellos del cerebro, revisiones sistemáticas con y sin metaanálisis, y publicaciones en idiomas distintos al inglés, español o portugués.

6.2 Estrategias de búsqueda

6.2.1 *Búsqueda electrónica*

Las bases de datos utilizadas para la búsqueda fueron MEDLINE/PubMed, Web of Science (WoS), Scopus, y BVS/LILACS, utilizando para cada base de datos dos motores de búsqueda, uno basado en términos MeSH y otro simplificado en lenguaje común de manera complementaria. De esta búsqueda se reportaron los estudios encontrados hasta el 15 de diciembre de 2022.

Palabras clave: neurons, periodontitis, lipopolysaccharides, porphyromonas gingivalis, aggregatibacter actinomycetemcomitans, ferroptosis, iron, reactive oxygen species, oxidative stress, lipid peroxidation, hepcidin, alzheimer disease, neurodegeneration.

A continuación, se detallan los motores de búsqueda utilizados basados en la población, la exposición y el resultado.

MEDLINE/PubMed: (Neurons[MeSH Terms]) AND (periodontitis[MeSH Terms] OR lipopolysaccharides[MeSH Terms] OR "porphyromonas gingivalis"[MeSH Terms] OR "aggregatibacter actinomycetemcomitans"[MeSH Terms]) AND (ferroptosis[MeSH Terms] OR iron[MeSH Terms] OR "reactive oxygen species"[MeSH Terms] OR "oxidative stress"[MeSH Terms] OR "lipid peroxidation"[MeSH Terms] OR hepcidins[MeSH Terms] OR "alzheimer disease"[MeSH Terms] OR "neurodegenerative diseases"[MeSH Terms])

Scopus: TITLE-ABS-KEY(Neurons) AND TITLE-ABS-KEY(periodontitis OR lipopolysaccharides OR "porphyromonas gingivalis" OR "aggregatibacter actinomycetemcomitans") AND TITLE-ABS-KEY(ferroptosis OR iron OR "reactive oxygen species" OR "oxidative stress" OR "lipid peroxidation" OR hepcidin OR "alzheimer disease" OR neurodegeneration)

WoS: TS=(Neurons) AND TS=(periodontitis OR lipopolysaccharides OR "porphyromonas gingivalis" OR "agggregatibacter actinomycetemcomitans") AND TS=(ferroptosis OR iron OR "reactive oxygen species" OR "oxidative stress" OR "lipid peroxidation" OR hepcidin OR "alzheimer disease" OR neurodegeneration)

BVS/LILACS: (Neurons) AND (periodontitis OR lipopolysaccharides OR "porphyromonas gingivalis" OR "agggregatibacter actinomycetemcomitans") AND (ferroptosis OR iron OR "reactive oxygen species" OR "oxidative stress" OR "lipid peroxidation" OR hepcidin OR "alzheimer disease" OR neurodegeneration)

De manera complementaria, se utilizó el segundo motor de búsqueda en lenguaje común en las mismas bases de datos. Al ser simplificado, permitió la inclusión de resultados pertinentes que no habían sido encontrados en la búsqueda principal debido a la gran variabilidad en las palabras clave ingresadas para estudios de un mismo tema. Este motor fue: (lipopolysaccharides) AND (ferroptosis OR iron) AND (neurodegenerative diseases OR alzheimer disease).

6.2.2 Búsqueda de otras fuentes

Se llevó a cabo una revisión manual de las referencias bibliográficas de los estudios encontrados para buscar artículos de interés que podrían no haber sido encontrados mediante la estrategia de búsqueda en las bases de datos.

6.3 Recopilación de datos y análisis de los estudios

6.3.1 Selección de estudios

Para seleccionar los estudios, se utilizó la plataforma Rayyan® - Intelligent Systematic Review con el fin de eliminar los estudios duplicados en la búsqueda, para luego seleccionar cada estudio según título y resumen, siguiendo el diagrama de flujo PRISMA a través de esta misma plataforma. Luego de esta primera selección, los artículos incluidos fueron descargados e ingresados a una planilla Excel® para evaluar su texto completo. Posteriormente, se hizo una revisión manual

de referencias en la bibliografía de estos artículos para encontrar más publicaciones pertinentes. A los estudios seleccionados se aplicaron los criterios de elegibilidad, mientras que aquellos que generaron dudas en su selección fueron discutidos entre el autor y sus tutoras.

6.3.2 Extracción de datos

Luego de la selección de los estudios, se extrajo la información de su texto completo para organizarla en la planilla de Excel®, utilizando un formulario adaptado al estudio basándose en el Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones, versión 5.1 (Higgins y Green, 2011), para luego llevar a cabo el análisis cualitativo de los datos extraídos.

6.3.3 Análisis del riesgo de sesgo de los artículos seleccionados

Para los estudios experimentales en modelos animales, fue usada la herramienta Systematic Review Center for Laboratory animal Experimentation (SYRCLE), derivada de la herramienta de evaluación de riesgo de sesgo de estudios clínicos aleatorizados de Cochrane (Hooijmans y cols., 2014), que posee una escala de 10 ítems relacionados con 6 tipos de sesgo, que son: selección, desempeño, detección, deserción, reporte, y otros sesgos. Cada uno de ellos contiene diferentes preguntas de señalización que aportan en el proceso de juicio del estudio. Las respuestas posibles para cada una de estas preguntas fueron: SÍ, cuando la pregunta fue respondida de manera adecuada; POCO CLARO, cuando no hubo información suficiente para responder la pregunta; y NO, cuando la pregunta no fue respondida. Luego, el tipo de sesgo fue evaluado como alto, moderado o bajo dependiendo del resultado en cada dominio (Hooijmans y cols., 2014).

7. RESULTADOS

7.1 Descripción de los estudios seleccionados

La búsqueda de estudios realizada en las bases de datos MEDLINE/PubMed, Scopus, WoS y BVS/LILACS arrojó un total de 3.468 resultados, los cuales fueron ingresados a la plataforma Rayyan® - Intelligent Systematic Review, tras lo que 1.681 estudios duplicados fueron eliminados. Posteriormente, en la misma plataforma se revisó el título y el *Abstract* de los 1.787 resultados únicos restantes, de los cuales 24 cumplieron con los criterios de elegibilidad y fueron incluidos para revisión del texto completo. Estos 24 resúmenes seleccionados inicialmente fueron revisados en detalle con su texto completo, y ordenados en una tabla Excel®, tras lo cual 18 fueron seleccionados y 6 excluidos. El total de 1.769 estudios que fueron excluidos se debió principalmente a que no cumplieron con los criterios de elegibilidad establecidos, ya sea porque no estudiaron la muerte celular asociada a desregulación del metabolismo del hierro o ferroptosis, por haber sido realizados en poblaciones celulares que excluyeron neuronas, haber realizado intervenciones que no utilizaron LPS en neuronas, glías o tejido cerebral, o por ser revisiones de la literatura.

Posterior a esta selección, se realizó una búsqueda manual de estudios en las listas de referencias de los estudios previamente seleccionados en la búsqueda electrónica. Un total de 3 estudios (Wang y cols., 2008; Huo y cols., 2018; Chu y cols., 2022) fueron seleccionados e ingresados a la tabla Excel®, y se procedió a la revisión detallada de su texto completo, tras lo cual estos 3 fueron incluidos (**Figura 2**).

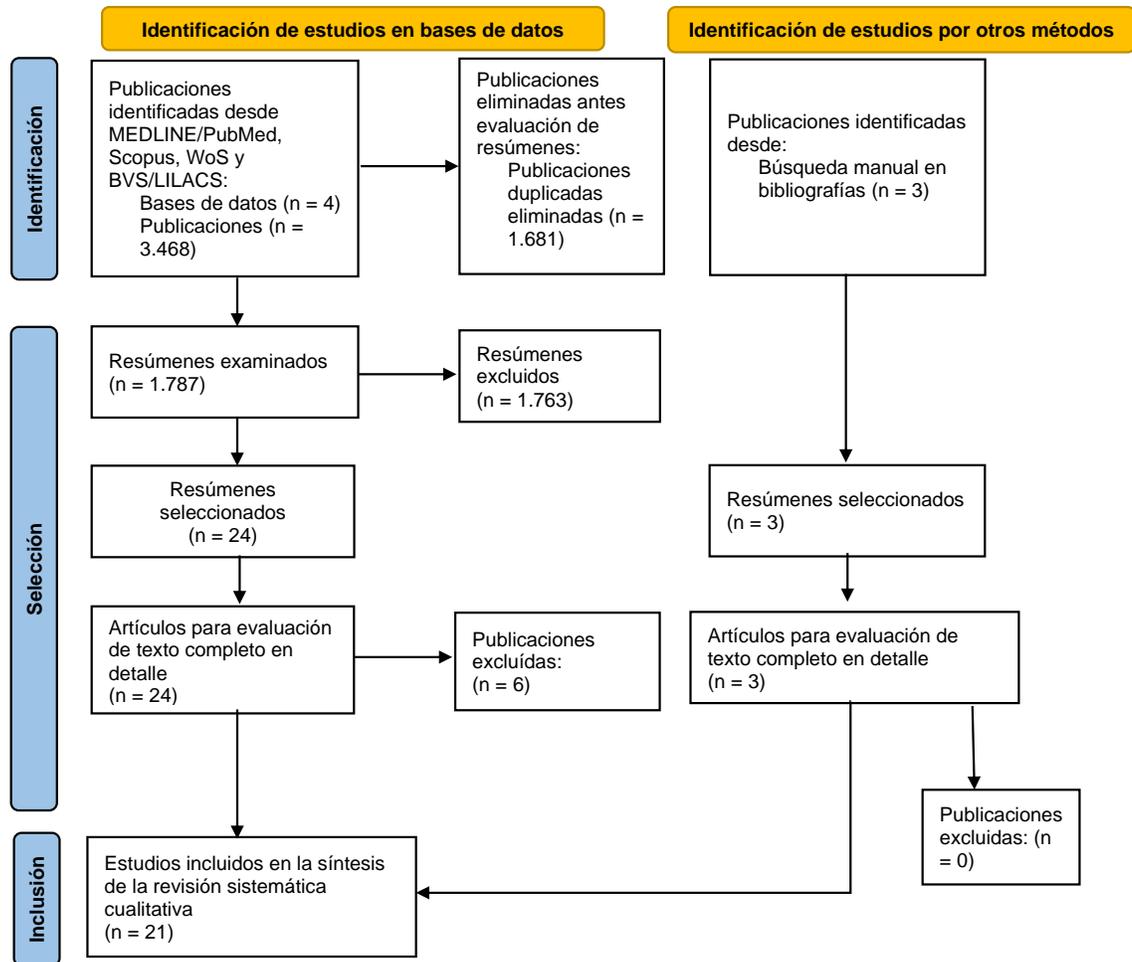


Figura 2. Diagrama de flujo PRISMA para la búsqueda y selección de estudios. (Page y cols., 2021). Traducción y adaptación propia.

Luego de esta evaluación detallada del texto completo de todas las publicaciones seleccionadas que fueron obtenidas mediante la búsqueda electrónica y manual, se incluyó para la síntesis de esta revisión sistemática cualitativa un total de 21 estudios (**Figura 2**). Todos los estudios seleccionados corresponden a ensayos experimentales, de los cuales 10 fueron realizados *in vivo* en animales (Zhang y cols., 2005, 2012, 2015, 2017; Wang y cols., 2008; Tripathi y cols., 2017; Huo y cols., 2018; Sharma y Nehru, 2018; Fernández-Mendivil y cols., 2021; Li y cols., 2022c), 6 fueron realizados *in vitro* en cultivos celulares (Im y cols., 2006; Urrutia y cols., 2013; Wang y cols., 2013; Ma y cols., 2018; Pandur y cols., 2019; Yauger y cols., 2019), y 5 *in vivo* e *in vitro* (Qian y cols., 2014; Zhang y cols., 2014; You y cols., 2017; Liu y cols., 2018; Chu y cols., 2022). De los 6 estudios

previamente excluidos, 4 no evaluaron el efecto directo o indirecto de LPS sobre la desregulación del metabolismo del hierro en neuronas (Gunesch y cols., 2020; Maher y cols., 2020; Shin y cols., 2020; Wang y cols., 2022a); 1 no utilizó LPS, y aunque si bien usó un modelo de periodontitis inducida, tampoco evaluó la desregulación del metabolismo del hierro en neuronas inducida por éste (Kose y cols., 2021); y 1 estudio no mostró los resultados de ninguno de los experimentos mencionados en la sección “Materiales y métodos”, describiendo otros totalmente distintos (Shi y Chen, 2017).

Entre todos los hallazgos reportados, no se encontraron publicaciones de estudios originales que evaluaran los mecanismos de muerte neuronal ferroptótica específicamente con los LPS de bacterias periodontopatógenas como *P. gingivalis* o *A. actinomycetemcomitans*. En su lugar, los estudios utilizaron el LPS de *E. coli*, o bien de origen bacteriano no especificado en el caso de 12 estudios, que son los de Wang y cols., 2008, 2013; Zhang y cols., 2012, 2014, 2015; Qian y cols., 2014; You y cols., 2017; Huo y cols., 2018; Liu y cols., 2018; Ma y cols., 2018; Chu y cols., 2022; Li y cols., 2022.

A continuación, en la **tabla 1** se presenta la extracción de datos P.I.Co.R. de estudios experimentales *in vivo* e *in vitro*.

Tabla 1. Extracción de datos P.I.C.O.R. de estudios experimentales <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>						
Referencia	Título	Modelo experimental	Población	Intervención	Comparación	Resultados
Chu y cols., 2022	Acetaminophen alleviates ferroptosis in mice with sepsis-associated encephalopathy via the GPX4 pathway	<i>In vivo</i>	Ratones C57BL/6	No cumple criterios de elegibilidad	No cumple criterios de elegibilidad	No cumple criterios de elegibilidad
		<i>In vitro</i>	Cultivos celulares de línea hipocampal HT22	Exposición a LPS (Cat#L4319, Sigma, USA) o RSL3	Cultivos celulares no expuestos a LPS	LPS disminuyó viabilidad celular; aumentó los niveles de hierro, estrés oxidativo e inflamación; e indujo ferroptosis en células HT22; lo cual fue mitigado por APAP por regulación de la vía GPX4
Fernández-Mendivil y cols., 2021	Protective role of microglial HO-1 blockade in aging: Implication of iron metabolism	<i>In vivo</i>	Ratones adultos y envejecidos WT y HMOX1M-KO	Inyección intraperitoneal de LPS de <i>E. coli</i> serotipo O127:B8	Ratones sometidos a inyección salina intraperitoneal	LPS induce desregulación del metabolismo del hierro, ferroptosis y deterioro cognitivo dependiente de la actividad de HO-1 en cerebro de ratones envejecidos

Huo y cols., 2018	LPS induces dopamine depletion and iron accumulation in substantia nigra in rat models of Parkinson's disease	<i>In vivo</i>	Ratas Sprague-Dawley	Inyección lateral de LPS en globus pallidus	Ratas sometidas a inyección salina lateral	LPS induce deterioro en la capacidad motora, disminución de neuronas dopaminérgicas y de dopamina, aumento de la proliferación de microglías, y acumulación de hierro en SNpc
Im y cols., 2006	Cyclooxygenase-2-dependent neuronal death proceeds via superoxide anion generation	<i>In vitro</i>	Cultivos primarios mixtos de corteza de ratones ICR y cultivos neuronales primarios de ratones COX-2-/-	Exposición a LPS de <i>E. coli</i> 0127, B8 y/o a cloruro de hierro (II)	Cultivos no expuestos a LPS y/o cloruro de hierro (II); expuestos a antioxidantes o inhibidores de COX-2; cultivos de neuronas COX-2-/-	LPS induce muerte neuronal, agotamiento de GSH, y aumento de LPO por aumento de la citotoxicidad de Fe ²⁺ dependiente de COX-2 y ROS

Li y cols., 2022c	The Ferroptosis Inhibitor Liproxstatin-1 Ameliorates LPS-Induced Cognitive Impairment in Mice	<i>In vivo</i>	Ratones C57BL/6	Inyección intracerebroventricular de LPS	Ratones sometidos a inyección intracerebroventricular de aCSF	LPS induce neuroinflamación, deterioro cognitivo, acumulación de Fe ²⁺ , aumento de marcadores de ferroptosis, y del daño y muerte neuronal en hipocampo, mitigados por el inhibidor de ferroptosis liproxstatina-1
Liu y cols., 2018	S-Nitrosylation of Divalent Metal Transporter 1 Enhances Iron Uptake to Mediate Loss of Dopaminergic Neurons and Motoric Deficit	<i>In vivo</i>	Ratones C57BL/6 WT y ratones transgénicos para DMT1	Inyección única de LPS en SNpc	Ratones sometidos a inyección salina en SNpc	LPS induce déficit motor, un aumento de los niveles de hierro lábil y de estrés oxidativo, de activación de microglías, y de muerte de neuronas dopaminérgicas en SN por S-nitrosilación de DMT1 mediante NO
		<i>In vitro</i>	Cultivos de líneas celulares HEK293 y SH-SY5Y	Donantes de NO NOC-18 y cysNO	Cultivos celulares no expuestos donantes de NO	DMT1 puede ser S-nitrosilado por NO, lo cual aumenta su actividad

Ma y cols., 2018	Different Characteristics of Heparin Expression in IL-6+/+ and IL-6-/- Neurons and Astrocytes Treated with Lipopolysaccharides	<i>In vitro</i>	Cultivos primarios de neuronas y de astrocitos de ratones C57BL/6 WT e IL-6-/-	Exposición a LPS	Cultivos no expuestos a LPS	LPS induce desregulación de Fpn1 por aumento de la expresión de ARNm de hepcidina dependiente de la vía IL-6/STAT3 en astrocitos
Pandur y cols., 2019	Effect of Inflammatory Mediators Lipopolysaccharide and Lipoteichoic Acid on Iron Metabolism of Differentiated SH-SY5Y Cells Alters in the Presence of BV-2 Microglia	<i>In vitro</i>	Monocultivo de líneas celulares SH-SY5Y y co-cultivo bilaminar con BV-2	Exposición a LPS de <i>E. coli</i> 055:B5	Cultivos no expuestos a LPS	LPS induce aumento de la expresión de proteínas reguladoras del metabolismo del hierro, de hepcidina y del contenido de hierro en células SH-SY5Y modulado por células BV-2 en co-cultivos
Qian y cols., 2014	Lipopolysaccharides upregulate hepcidin in neuron via microglia and the IL-6/STAT3 signaling pathway	<i>In vivo</i>	Ratas Sprague-Dawley	Inyección bilateral de LPS en ventrículos laterales	Ratas sometidas a inyección salina bilateral en ventrículos laterales	LPS induce aumento de la expresión de hepcidina y desregulación de proteínas asociadas a hierro en corteza y SN

		<i>In vitro</i>	Cultivos primarios de neuronas corticales de rata, de línea celular microglial BV-2, y de línea dopaminérgica MES23.5	Exposición a LPS	Cultivos no expuestos a LPS	LPS induce aumento de la expresión de hepcidina y desregulación de proteínas asociadas a hierro dependiente de microglías y de la vía IL-6/STAT3 en cultivos neuronales
Sharma y Nehru, 2018	Curcumin affords neuroprotection and inhibits α -synuclein aggregation in lipopolysaccharide-induced Parkinson's disease model	<i>In vivo</i>	Ratas Sprague-Dawley	Inyección unilateral de LPS de <i>E. coli</i> O111:B4 en SN	Ratones sometidos a inyección sin LPS	LPS induce respuesta inflamatoria, respuesta antioxidante con agotamiento de GSH, y acumulación de hierro asociado a muerte neuronal y neurodegeneración en SN de ratas, mitigado por curcumina
Tripathi y cols., 2017	Transport of Non-Transferrin Bound Iron to the Brain: Implications for Alzheimer's Disease	<i>In vivo</i>	Ratones FVB/NJ	Inyección intraperitoneal de LPS de <i>E. coli</i> O55:B6; de FAC y de $^{59}\text{FeCl}_3$	Ratones no sometidos a administración de LPS	Inflamación aguda inducida por LPS aumenta el transporte de NTBI en el cerebro

Urrutia y cols., 2013	Inflammation alters the expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells	<i>In vitro</i>	Cultivos primarios de neuronas hipocámpales y de glías corticales de ratas Sprague-Dawley	Exposición a LPS de <i>E. coli</i> 026:B6 1; TNF α , IL-6, o Fe-NTA	Cultivos celulares no expuestos a LPS	LPS y sus citoquinas relacionadas TNF α e IL-6 indujeron desregulación de proteínas asociadas al metabolismo de hierro con acumulación en neuronas y glías, modulada por la secreción glial de hepcidina
Wang y cols., 2008	Lipopolysaccharide induces a significant increase in expression of iron regulatory hormone hepcidin in the cortex and substantia nigra in rat brain	<i>In vivo</i>	Ratas Sprague-Dawley	Inyección intravenosa de LPS	Ratas sometidas a inyección salina intravenosa	LPS induce un aumento significativo en la expresión de hepcidina y su ARNm en corteza y SN
Wang y cols., 2013	Pro-inflammatory cytokines modulate iron regulatory protein 1 expression and iron transportation through reactive oxygen/nitrogen species production in ventral mesencephalic neurons	<i>In vitro</i>	Cultivos primarios de neuronas mesencefálicas y de microglías corticales de ratas Sprague-Dawley	Exposición a LPS, IL-1 β , o TNF α	Cultivos celulares no expuestos a LPS	LPS induce secreción de IL-1 β y TNF α , las cuales generan acumulación de ROS y de hierro en neuronas VM mediante la activación de IRP1 y hepcidina, y la desregulación de los

						transportadores de hierro
Yauger y cols., 2019	Iron accentuated reactive oxygen species release by NADPH oxidase in activated microglia contributes to oxidative stress in vitro	<i>In vitro</i>	Cultivos primarios de neuronas corticales, de microglías de ratas Sprague-Dawley, y de líneas celulares PC12 y BV2	Exposición a LPS 026:B6 o a sulfato de hierro (II)	Cultivos celulares no expuestos a LPS	LPS induce estrés oxidativo en microglías activadas acentuado por la presencia de hierro, e induce muerte neuronal dependiente de hierro y NOX

You y cols., 2017	Astrocyte hepcidin is a key factor in LPS-induced neuronal apoptosis	<i>In vivo</i>	Ratones Balb/C WT y GFAP-shhepcidin	Inyección cerebroventricular lateral de LPS	Ratones sometidos a inyección salina cerebroventricular lateral	LPS induce la expresión de hepcidina en astrocitos mediante secreción de IL-6 de microglías activadas, disminuyendo la expresión de Fpn1, aumentando la acumulación tóxica de hierro y la muerte neuronal
		<i>In vitro</i>	Cultivos primarios de neuronas, de microglías y astrocitos, y de línea celular glial de rata C6	Exposición a LPS o a medio acondicionado de glías expuestas a LPS	Cultivos celulares no expuestos a LPS	LPS induce la expresión de hepcidina en astrocitos mediante secreción de IL-6 de microglías activadas, disminuyendo la expresión de Fpn1, aumentando la acumulación tóxica de hierro y la muerte neuronal

Zhang y cols., 2005	Intrapallidal lipopolysaccharide injection increases iron and ferritin levels in glia of the rat substantia nigra and induces locomotor deficits	<i>In vivo</i>	Ratas Fischer 344 adultas y envejecidas	Inyección bilateral de LPS <i>E. coli</i> 0111:B4 en globus pallidus	Ratas sometidas a inyección salina bilateral	LPS induce activación microglial, acumulación de hierro, neurodegeneración, disminución del número de neuronas dopaminérgicas en SN, y deterioro motor con mayor susceptibilidad en ratas envejecidas
Zhang y cols., 2012	Neuroprotection of desferrioxamine in lipopolysaccharide-induced nigrostriatal dopamine neuron degeneration	<i>In vivo</i>	Ratones C57BL/6	Inyección de LPS y/o de DFO en cuerpo estriado	Ratones sometidos a inyección de PBS	LPS induce deterioro en actividad motora, una disminución de las concentraciones de DA y del número de neuronas dopaminérgicas, y un aumento de la activación microglial y de la acumulación de hierro en el mesencéfalo, mitigado por DFO

Zhang y cols., 2014	Pro-inflammatory cytokine-mediated ferroportin down-regulation contributes to the nigral iron accumulation in lipopolysaccharide-induced Parkinsonian models	<i>In vivo</i>	Ratas Sprague-Dawley	Inyección unilateral de LPS en SN	Ratas sometidas a inyección salina unilateral en SN	LPS induce activación glial, respuesta inflamatoria, muerte de neuronas dopaminérgicas, acumulación de hierro, desregulación de la proteína asociadas al metabolismo del hierro Fpn1, y de la respuesta antioxidante HO-1
			Cultivos celulares de glioma humano y de línea celular dopaminérgica a SH-SY5Y	Exposición a LPS o a medio acondicionado de células expuestas a LPS	Tratamiento con solución salina	LPS genera respuesta inflamatoria en células de glioma, induciendo apoptosis, acumulación de hierro y desregulación de proteínas asociadas al metabolismo del hierro y a la respuesta antioxidante en células SH-SY5Y

Zhang y cols., 2015	Deferoxamine attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment in mice	<i>In vivo</i>	Ratones C57BL/6	Inyección intracerebroventricular de LPS y/o de DFO	Ratones sometidos a inyección intracerebroventricular de aCSF	LPS induce deterioro cognitivo, respuesta inflamatoria con activación microglial, apoptosis, acumulación de hierro, desregulación de proteínas asociadas al metabolismo del hierro, estrés oxidativo y LPO en hipocampo, mitigado por administración de DFO
Zhang y cols., 2017	Impairment of hepcidin Upregulation by Lipopolysaccharide in the Interleukin-6 Knockout Mouse Brain	<i>In vivo</i>	Ratones C57BL/6 WT y IL-6 ^{-/-}	Inyección intracerebroventricular de LPS <i>E. coli</i> 055:B5	Ratones sometidos a inyección intracerebroventricular de PBS libre de endotoxina	LPS induce un aumento en la expresión de ARNm de hepcidina, de Ft-L, y disminución de Fpn1 mediante la regulación de la vía IL-6/STAT3, de la que depende la expresión de DMT1

aCSF: fluido cerebroespinal artificial; APAP: acetaminofén; ARNm: Ácido ribonucleico mensajero; COX-2: ciclooxigenasa-2; DA: dopamina; DFO: deferoxamina; DMT1: transportador de metales divalente 1; Fpn1: ferroportina 1; Ft-L: cadena liviana de ferritina; GPX4: glutatión peroxidasa 4; GSH: glutatión; HO-1: hemoxigenasa-1; IL-1 β : interleuquina-1 beta; IL-6: interleuquina-6; IRP1: proteína reguladora de hierro 1; LPO: peroxidación lipídica; LPS: lipopolisacárido; NOX: NADPH oxidasa; NTBI: hierro no unido a transferrina; PBS: buffer fosfato salino; SN: substantia nigra; SNpc: substantia nigra pars compacta; STAT3: transductor de señal y activador de la transcripción 3; TNF α : factor de necrosis tumoral alfa; VM: mesencéfalo ventral; WT: wild-type

7.2 Análisis del riesgo de sesgo

El análisis de riesgo de sesgo de los estudios realizados en animales, o de aquellos que presentan experimentos en animales fue hecho mediante la herramienta SYRCLE (Hooijmans y cols., 2014). Se exceptúa de este análisis el estudio de Chu y cols., 2022, debido a que los experimentos realizados en animales no cumplieron con los criterios de elegibilidad y por tanto no fueron incluidos entre los resultados, si bien los experimentos *in vitro* que este reporte incluyó fueron considerados en la extracción y síntesis de los datos.

En cuanto al sesgo de selección, en el dominio 1 correspondiente a la generación de secuencias, 3 estudios obtuvieron la clasificación de “Poco claro” (Zhang y cols., 2012, 2015; Li y cols., 2022c), ya que declararon asignar los grupos de manera aleatoria sin especificar cómo se hizo, mientras que los 11 estudios restantes no reportaron aleatoriedad en la asignación de grupos, siendo clasificados en “No”. En el dominio 2, sobre las características basales de los animales, 13 estudios informaron el uso de animales con características similares entre ellos o ajustaron los factores confundentes relacionados, mientras que 1 declaró animales que podrían presentar características basales heterogéneas dentro de su grupo, por ser animales de distinto origen (Zhang y cols., 2017), siendo clasificado como “Poco claro”. Y en el dominio 3, de ocultamiento de la asignación, los 14 estudios fueron clasificados como “Poco claro” por no especificar ningún tipo de ocultamiento en la asignación de los animales a sus respectivos grupos.

En relación con el sesgo de desempeño, 2 estudios recibieron la clasificación “Poco claro” (Zhang y cols., 2012, 2014) en el dominio 4 por no referir alguna forma de aleatoriedad en el alojamiento de los animales, y 1 estudio (Zhang y cols., 2015) declaró un criterio de alojamiento no aleatorio en base al grupo asignado. Los demás estudios sí presentaron características aleatorias en el alojamiento de los animales. En el dominio 5 todos los estudios fueron clasificados como “Poco claro”, por no especificar el cegamiento de los investigadores o cuidadores para la intervención que recibía cada animal durante todos los experimentos realizados.

El sesgo de detección fue clasificado como “Poco claro” para todos los estudios en los dominios 6 y 7, debido a que ninguno describió si existió alguna forma de selección aleatoria en la evaluación de los resultados ni de cegamiento de los evaluadores, respectivamente.

Sobre el sesgo de deserción, en el dominio 8, 11 estudios fueron clasificados en “Sí”, ya que si bien no especificaron si hubo pérdida de datos de resultados, es muy poco probable que esta influya en el resultado final luego del análisis estadístico, mientras que 2 estudios (Zhang y cols., 2005; Tripathi y cols., 2017) recibieron la clasificación “Poco claro” por no detallar el número inicial de animales ni incluirlo en el análisis de resultados.

En cuanto al sesgo de reporte, 2 estudios (Zhang y cols., 2014; Huo y cols., 2018) fueron catalogados como “Poco claro” en el dominio 9 debido a la falta de cuantificación y análisis estadístico de algunos resultados reportados, como imágenes de secciones inmunohistoquímicas o tinciones histológicas de las cuales se desprenden conclusiones, por lo que presentan un potencial riesgo de sesgo de reporte selectivo; y 2 estudios clasificados en “No” (Zhang y cols., 2005; Tripathi y cols., 2017) por presentar resultados en su mayoría no cuantificados y sin análisis estadístico, que no informan todas las situaciones experimentales previamente descritas, o que lo hacen de manera selectiva.

Finalmente, todos los estudios estaban aparentemente libres de cualquier otro tipo de sesgo en base a las preguntas de señalización del dominio 10. En general, el riesgo de sesgo de los estudios en animales seleccionados fue identificado como libres de sesgo (“Sí”) en 5 dominios, como “Poco claro” en 4 y como alto riesgo de sesgo (“No”) en 1 (**Tabla 2**).

3) ¿La asignación a los diferentes grupos fue ocultada adecuadamente durante el mismo tiempo?		Poco claro				
3	<p>*¿Podría el investigador que asigna los animales al grupo de intervención o control no prever la asignación debido a uno de los métodos siguientes o equivalentes?</p> <p>■ Codificación por terceros de la aleatorización central de asignación de grupos experimentales y de control por un tercero</p> <p>■ Sobres opacos y sellados numerados secuencialmente</p>	Poco claro				
4) ¿Los animales fueron alojados aleatoriamente durante el experimento?		Sí	Poco claro	Poco claro	No	Sí
4	<p>*¿Los autores ubicaron aleatoriamente las jaulas o animales dentro de la sala/instalación de animales?</p> <p>■ Los animales fueron seleccionados al azar durante la evaluación de los resultados</p>	Poco claro	No	Poco claro		
	<p>*¿Es poco probable que el resultado o su medición fuera influenciado por alojar aleatoriamente los animales?</p>	Sí	Poco claro	Poco claro	No	Sí

	8) ¿Los datos de resultados incompletos fueron adecuadamente abordados?	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Poco claro	Sí	Sí	Poco claro	Sí	Sí	Sí	Sí
	*¿Se incluyó a todos los animales en el análisis?	Poco claro	Poco claro	Sí	Poco claro	Poco claro	Sí	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	No	Poco claro
8	*¿Es poco probable que las razones para la falta de datos de resultados estén relacionadas con el resultado verdadero? (por ejemplo, falla técnica)	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Poco claro	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
	*¿Los datos de resultados faltantes están equilibrados en números entre los grupos de intervención, con razones similares para la falta de datos entre los grupos?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	*¿Los datos de resultados faltantes están ingresados usando métodos apropiados?	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	No	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro	Poco claro
	9) ¿Los reportes del estudio están libres de reporte selectivo de resultados?	Sí	Poco claro	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No	Sí	Poco claro	Sí	Sí
9	*¿El protocolo del estudio estaba disponible, y todos los resultados primarios y secundarios preespecificados del estudio fueron informados en el manuscrito actual?	Sí	Poco claro	Sí	Sí	Sí	Sí	Poco claro	Poco claro	Sí	Poco claro	Sí	Poco claro	Sí	Sí
	*¿El protocolo del estudio no estaba disponible, pero estaba claro que el informe publicado incluyó todos los resultados esperados? (por ejemplo, comparando las secciones de métodos y resultados)	Sí	Poco claro	Sí	Sí	Sí	Sí	Poco claro	Poco claro	Sí	Poco claro	Sí	Poco claro	Sí	Sí

7.3 Identificación de las vías de inducción de desregulación del metabolismo del hierro por LPS en cultivos celulares

Luego de la lectura del texto completo y de la extracción de los datos de las publicaciones seleccionadas, fue posible identificar distintas vías de inducción de muerte neuronal o neurodegeneración por LPS mediante desregulación del metabolismo del hierro o ferroptosis, las cuales fueron estudiadas por los investigadores, y que orientaron los experimentos realizados para poder establecer sus hallazgos, los que en esta sección se sintetizan (**Tabla 1**).

Los estudios *in vitro* fueron realizados principalmente en cultivos primarios neuronales, gliales o mixtos, y/o en líneas celulares de glías o neuronas. En ellos se pudieron identificar cuatro vías principales, las cuales están interrelacionadas. Estas son la vía de la respuesta inflamatoria (Wang y cols., 2013; Zhang y cols., 2014), la vía de la respuesta antioxidante (Im y cols., 2006; Yauger y cols., 2019; Chu y cols., 2022), la vía de la S-nitrosilación (Liu y cols., 2018), y la vía IL-6/STAT3/hepcidina (Urrutia y cols., 2013; Qian y cols., 2014; You y cols., 2017; Ma y cols., 2018; Pandur y cols., 2019). Cabe destacar que estas vías no son necesariamente excluyentes entre ellas, ya que presentan múltiples elementos en común que las interrelacionan y les entregan características potencialmente complementarias.

En la vía de la respuesta inflamatoria, el estudio de Wang y cols. de 2013 utilizó las citoquinas proinflamatorias IL-1 β y TNF α en cultivos primarios de neuronas ventrales mesencefálicas (VM) y de microglías corticales, donde además de comprobar la secreción de estas citoquinas por inducción de LPS y su aumento en combinación con hierro, demostraron que IL-1 β y TNF α provocaron acumulación de hierro en neuronas VM mediante la activación de la proteína reguladora de hierro 1 (IRP1) y hepcidina, los cuales aumentaron la expresión de DMT1 y disminuyeron la de Fpn1, aumentando el ingreso y reduciendo la exportación de hierro, respectivamente. Estos cambios dependieron de la producción de ROS y de NO, ya que fueron mitigados por el bloqueo de éstas mediante el antioxidante N-acetilcisteína (NAC) y el inhibidor de sintetasas de NO L-NAME (N-Nitro-L-arginina metiléster), respectivamente (Wang y cols., 2013). En este sentido, el estudio de Zhang y cols. de 2014

también demostró el aumento de la secreción de IL-6 y TNF α por LPS en una línea celular de glioma. Además, IL-6, TNF α y el medio de cultivo de las células de glioma tratadas con LPS, rico en estas citoquinas, también indujeron una disminución en la expresión de Fpn1, un aumento de la respuesta antioxidante mediante HO-1, acumulación de hierro y apoptosis en células dopaminérgicas SH-SY5Y (Zhang y cols., 2014).

Como se observó en la vía anterior, la respuesta antioxidante también juega un papel crucial en la desregulación del metabolismo del hierro inducida por LPS. El estudio de Yauger y cols. de 2019 demostró que el LPS indujo un aumento de ROS, de citoquinas proinflamatorias y acumulación de hierro en microglías y en la línea microglial BV-2 junto con su activación, lo cual es acentuado por la presencia de hierro. Adicionalmente, se observó muerte y disminución de la densidad de neuritas en cultivos de neuronas primarias cultivadas en presencia de microglías pretratadas con LPS, efecto que fue dependiente de hierro y NOX, y que interesantemente fue revertido por el quelante de hierro DFO. En este caso, la acumulación de hierro fue asociada al aumento en la expresión de DMT1 (Yauger y cols., 2019). Resultados similares fueron obtenidos en el estudio de Chu y cols., de 2022, en el que el LPS provocó ferroptosis en la línea celular hipocampal HT22 asociada a la actividad de GPX4 (Chu y cols., 2022), y en el estudio de Im y cols. de 2006, en el que la muerte de neuronas en cultivos corticales primarios se vio acompañada de agotamiento de GSH y de aumento de la peroxidación lipídica por aumento de la citotoxicidad de Fe²⁺ dependiente de ciclooxigenasa-2 (COX-2) y ROS, ante el tratamiento con LPS (Im y cols., 2006).

Una vía diferente, aunque relacionada a las anteriores es la demostrada en el trabajo de Liu y cols., en el año 2018, en el que la S-nitrosilación, que es un proceso de modificación postraduccional de proteínas en el cual el NO se une covalentemente a un grupo tiol de cisteína y modifica la función de estas proteínas, aumentó la actividad del transportador de hierro DMT1 (Liu y cols., 2018). En este estudio, si bien los experimentos realizados en cultivos celulares no estudiaron el efecto de LPS sobre la actividad de DMT1 y del metabolismo del hierro, sí demostraron que DMT1 fue S-nitrosilado (SNO-DMT1) y que esta modificación aumentó su actividad. El papel de LPS en este proceso es

demostrado en los experimentos en animales incluidos en este informe (Liu y cols., 2018).

La vía IL-6/STAT3/hepcidina fue ampliamente estudiada por un número importante de publicaciones entre las seleccionadas, concentrando 5 estudios. Entre ellos, el trabajo de Urrutia y cols. de 2013, demostró que el LPS y sus citoquinas relacionadas TNF α e IL-6 provocaron una desregulación de las proteínas asociadas al metabolismo de hierro DMT1 y Fpn1, con acumulación de hierro en cultivos primarios de neuronas hipocampales y de glías corticales de rata, por la modulación de la secreción glial de hepcidina, la cual disminuyó la expresión de Fpn1 en neuronas, astrocitos y microglías, y aumento la de DMT1 en estas últimas (**Figura 3**) (Urrutia y cols., 2013).

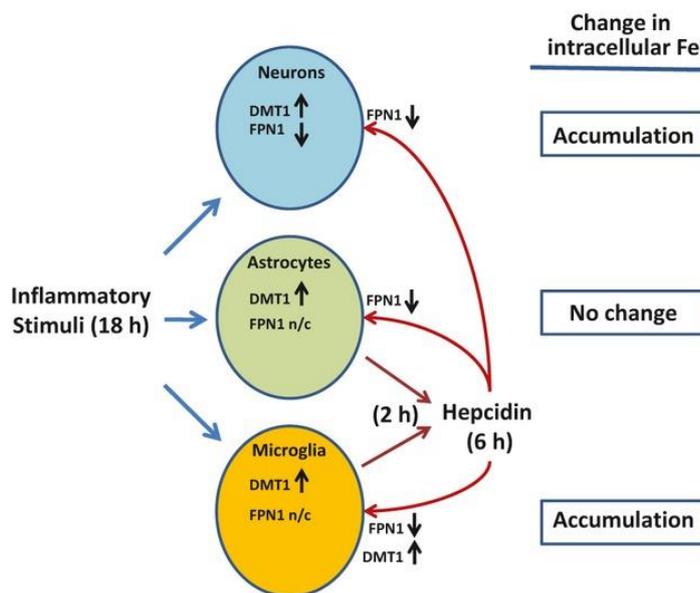


Figura 3. Representación esquemática de los cambios en la homeostasis del hierro en las células del CNS expuestas a estímulos inflamatorios (TNF- α , IL-6, LPS) por 18h. Los resultados muestran un aumento de DMT1 en neuronas, astrocitos y microglías, y una disminución de Fpn1 en neuronas. La hepcidina secretada por los astrocitos y las microglías en respuesta a estos estímulos inflamatorios después de 6h induce una disminución transitoria de Fpn1 en los tres tipos celulares, y un aumento de DMT1 en microglías. El resultado final del estímulo inflamatorio y la mediación de hepcidina es la acumulación de hierro en las neuronas y las microglías, pero no en los astrocitos (Urrutia y cols., 2013).

El año 2018, Qian y cols. demostraron que el LPS alteró la expresión de hepcidina, y con ello indujo la desregulación de proteínas asociadas a hierro dependiente de microglías, de secreción de IL-6, y de la fosforilación de STAT3 en cultivos neuronales corticales de rata y en la línea celular dopaminérgica MES23.5 (**Figura 4**) (Qian y cols., 2014).

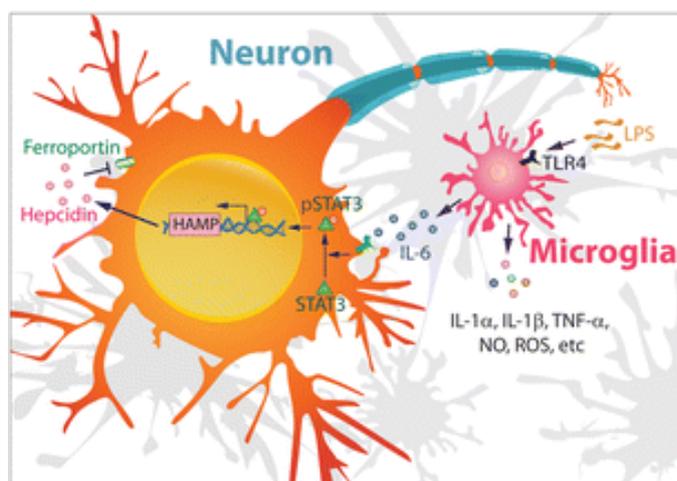


Figura 4. Esquema del mecanismo propuesto para la regulación neuronal de hepcidina durante la inflamación. Las microglías son activadas por la unión de LPS a TLR4 en la membrana. Las microglías activadas producen una serie de mediadores inflamatorios como IL-6, el principal factor que induce fosforilación de STAT3 en las neuronas. STAT3 fosforilado se transloca al núcleo, donde regula la expresión del gen de hepcidina (HAMP). El aumento en la expresión de hepcidina y su liberación puede funcionar como un péptido antimicrobiano y también desregular la expresión de *Fpn1* en las células del cerebro como las neuronas, alterando el metabolismo del hierro en el cerebro (Qian y cols., 2014).

En un estudio de similares características llevado a cabo por Ma y cols. en 2018, experimentos realizados en cultivos primarios de neuronas y de astrocitos de ratones *wild-type* (WT) y *knockout* para IL-6, demostraron una desregulación de *Fpn1* ante el tratamiento con LPS por aumento de la expresión de ARNm de hepcidina dependiente de la vía IL-6/STAT (Ma y cols., 2018). En una línea celular diferente, el grupo de Pandur y cols., en el año 2019, realizó experimentos en células dopaminérgicas SH-SY5Y y en microglías BV-2, en los cuales de manera similar a lo que ya hemos visto, el LPS causó un aumento de la expresión de las citoquinas proinflamatorias IL-6 y TNF α , y de las proteínas reguladoras del metabolismo del hierro DMT1 y TfR1, acompañado del aumento en la secreción de hepcidina y del contenido de hierro en células SH-SY5Y modulado por células BV-2 en co-cultivos (Pandur y cols., 2019). Finalmente, el estudio realizado por You y cols. en 2017 demostró en sus experimentos en cultivos primarios de neuronas, de microglías y astrocitos, y de línea celular glial de rata C6 con silenciamiento para hepcidina, que el LPS indujo la expresión de hepcidina en astrocitos mediante la secreción de IL-6 de microglías activadas, disminuyendo la expresión de *Fpn1* en neuronas, y aumentando así la acumulación tóxica de hierro y la muerte neuronal en los cultivos (**Figura 5**) (You y cols., 2017).

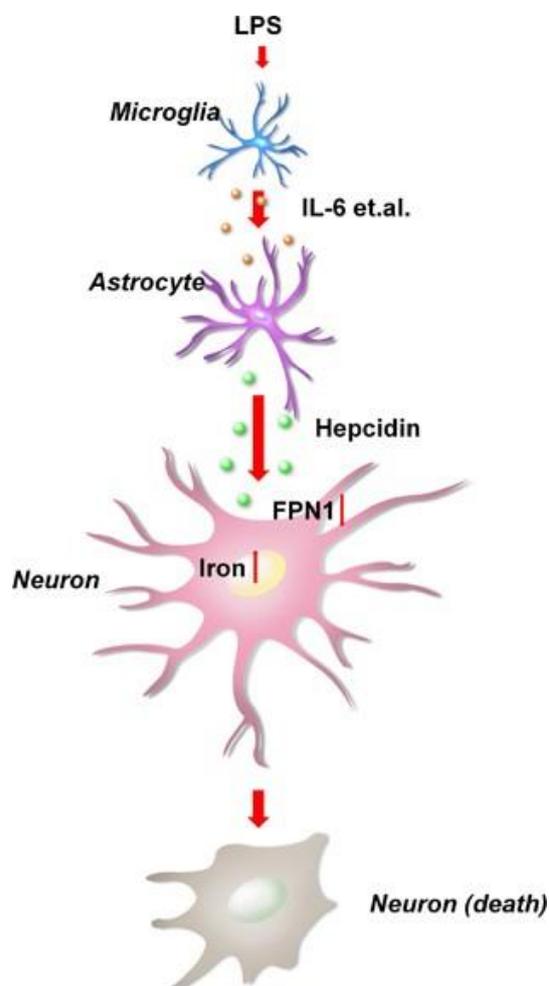


Figura 5. La expresión de hepcidina inducida por LPS en los astrocitos es regulada por IL-6 de las microglías activadas. La hepcidina de los astrocitos es un efector en la vía de la apoptosis neuronal mediada por LPS por la disminución de los niveles neuronales de la proteína *Fpn1*, lo que lleva a un aumento concomitante en los niveles de hierro neuronales, y finalmente su muerte (You y cols., 2017).

7.4 Identificación de las vías de inducción de desregulación del metabolismo del hierro por LPS en animales

Las vías identificadas en cultivos celulares también fueron observadas en los experimentos realizados en modelos animales. La inducción de la desregulación del metabolismo del hierro por LPS fue observada a través de la vía de la respuesta inflamatoria en el estudio de Zhang y cols. en 2005, donde observaron que LPS provocó activación microglial, acumulación de hierro, neurodegeneración, disminución del número de neuronas dopaminérgicas en la SN, y deterioro motor con mayor susceptibilidad en ratas F344 envejecidas (Zhang y cols., 2005). En esta misma línea, el grupo de Zhang y cols. en 2012 demostró que el LPS indujo un deterioro en la actividad motora, disminución de las concentraciones de DA y del número de neuronas dopaminérgicas, y

aumento de la activación microglial y de la acumulación de hierro en el mesencéfalo, lo cual fue mitigado por DFO en ratones C57BL/6 (Zhang y cols., 2012), mostrando nuevamente su efecto protector en la neurodegeneración inducida por LPS. En el estudio de Huo y cols. (2018), el LPS generó acumulación de hierro asociada a neurodegeneración, donde se evidenció un deterioro en la capacidad motora, una disminución de neuronas dopaminérgicas y DA, un aumento en la proliferación de microglías, y acumulación de hierro en SNpc inducidos por LPS en ratas Sprague-Dawley (Huo y cols., 2018). Esta vez en modelos de neurodegeneración asociada a EA, Zhang y cols. en 2015, observaron que el LPS causó deterioro cognitivo, aumento de la respuesta inflamatoria con activación microglial, apoptosis, desregulación de las proteínas asociadas al metabolismo del hierro Fpn1 y ferritina, acumulación de hierro, estrés oxidativo y peroxidación lipídica en hipocampo de ratones C57BL/6, lo cual también fue mitigado por la administración de DFO en este estudio (Zhang y cols., 2015).

En un modelo distinto, Tripathi y cols., en 2017, observaron mediante radiomarcaje y autoradiografías que la inflamación aguda inducida por LPS aumentó el transporte de hierro no unido a transferrina (NTBI) en el cerebro de ratones FVB/NJ (Tripathi y cols., 2017).

En el año 2018, Sharma y Nehru reportaron que el LPS indujo un aumento en la respuesta inflamatoria por el incremento de citoquinas como IL-1 β y TNF α , así como un agotamiento de GSH en la respuesta antioxidante, y acumulación de hierro asociada a muerte neuronal y neurodegeneración en SN de ratas Sprague-Dawley, lo que fue mitigado por el antioxidante curcumina, mostrando la relación que existe entre las vías de la respuesta inflamatoria y de la respuesta antioxidante ante LPS (Sharma y Nehru, 2018). En otro estudio, Zhang y cols. en 2014, utilizando también ratas Sprague-Dawley, demostraron la correlación entre el LPS y la activación glial, la respuesta inflamatoria, la muerte de neuronas dopaminérgicas, la acumulación de hierro, y la desregulación de la proteína asociada al metabolismo del hierro Fpn1 y de la respuesta antioxidante por el aumento de HO-1 (Zhang y cols., 2014). Más recientemente, en el año 2022, Li y cols. demostraron en ratones C57BL/6V cómo la neuroinflamación inducida por LPS fue acompañada de deterioro cognitivo, acumulación de hierro, aumento de marcadores de ferroptosis como la disminución de GSH y de la actividad de

GPX4, y aumento de la peroxidación lipídica, de daño mitocondrial, y de daño y muerte neuronales en hipocampo, mitigados por el inhibidor de ferroptosis liproxstatina-1 (Li y cols., 2022c), lo cual asocia directamente la acción de LPS con la ferroptosis en neuronas.

El estudio realizado por el grupo de Fernández-Mendívil y cols. en 2021 abordó principalmente la vía de la respuesta antioxidante y su rol en la acumulación de hierro inducida por inflamación y envejecimiento. De esta forma, demostraron en ratones WT y con *knockout* selectivo para HO-1 en microglías cómo el LPS, en conjunto con el envejecimiento, indujo una desregulación del metabolismo del hierro, ferroptosis y deterioro cognitivo dependiente de la sobreactivación de HO-1 microglial en el cerebro de ratones envejecidos, y cómo DFO mejoró estos parámetros, asociando nuevamente LPS con ferroptosis (Fernández-Mendívil y cols., 2021).

Por otra parte, el estudio de Liu y cols. de 2018 también desarrolló experimentos en animales, explorando la vía de la S-nitrosilación *in vivo*. En ratones C57BL/6 se demostró que el LPS causó déficit motor, un aumento de los niveles de hierro lábil y de estrés oxidativo, de activación de microglías, y de muerte de neuronas dopaminérgicas en SN por S-nitrosilación de DMT1 mediante la inducción de NO (Liu y cols., 2018).

Finalmente, los experimentos realizados en animales también mostraron la inducción de la vía IL-6/STAT3/hepcidina por LPS. Primero, Wang y cols. en 2008, detectaron que el LPS generó un aumento significativo en la expresión de hepcidina y su ARNm en corteza y SN de ratas Sprague-Dawley (Wang y cols., 2008). Los experimentos *in vivo* del grupo de Qian y cols., publicados en 2014, también mostraron que el LPS indujo el aumento de la citoquina proinflamatoria IL-6, de la fosforilación de STAT3, de la expresión de hepcidina, y la consecuente desregulación de Fpn1 en corteza y SN de ratas Sprague-Dawley (**Figura 4**) (Qian y cols., 2014). Zhang y cols., en 2017, utilizaron ratones C57BL/6 WT y *knockout* para IL-6 en tratamiento con LPS, y detectaron un aumento en la expresión de ARNm de hepcidina, de la cadena liviana de ferritina (Ft-L), y una disminución de Fpn1 mediante la regulación de la vía IL-6/STAT3/hepcidina, de la que depende también la expresión de DMT1 (Zhang y cols., 2017). Ese mismo año You y cols., mediante los experimentos *in vivo* de su estudio en ratones

Balb/C WT y con silenciamiento selectivo para hepcidina en astrocitos (GFAP-shhepcidin), demostraron la inducción por parte de LPS de la expresión de hepcidina en astrocitos mediante la secreción de IL-6 en microglías activadas, disminuyendo así la expresión de Fpn1, y aumentando la acumulación tóxica de hierro y la muerte en neuronas, proponiendo finalmente el modelo expuesto en la **figura 5** (You y cols., 2017).

En síntesis, tanto los experimentos en células como en animales demostraron que los efectos del LPS sobre la respuesta inflamatoria resultaron en el aumento del estrés oxidativo con desregulación de la respuesta antioxidante y en la desregulación del metabolismo del hierro en el cerebro, causando su acumulación, muerte o ferroptosis neuronal, y deterioro cognitivo y motor.

8. DISCUSIÓN

La presente revisión tuvo por objetivo buscar en la literatura científica actual la relación entre los LPS de periodontopatógenos y la inducción de ferroptosis en neuronas, junto con sus posibles mecanismos. La relevancia de identificar esta relación yace en poder reconocer el potencial de la enfermedad periodontal como proceso que participa o que es responsable del desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Esto se vuelve aún más importante cuando entendemos que se trata de dos enfermedades crónicas asociadas al envejecimiento altamente prevalentes en el mundo (Norton y cols., 2014; Murray y cols., 2015; Wu y cols., 2016; López y cols., 2017; Ray Dorsey y cols., 2018; Nazir y cols., 2020; Clark y cols., 2021), especialmente en países con mayores niveles de desarrollo donde existe una población envejecida (Norton y cols., 2014; Murray y cols., 2015), lo cual representa no sólo un detrimento en la calidad de vida de quienes presentan la condición, sino que de cuidadoras y cuidadores, donde una vez más evidenciamos importantes brechas de género (Alzheimer's Association, 2014; Alzheimer's Association, 2022). Si bien esta relación ya ha sido estudiada desde la perspectiva de la inducción de la cascada β -amiloide y la hiperfosforilación de Tau (Díaz-Zúñiga y cols., 2020; Fernandes Costa y cols., 2021), aún queda mucho por conocer acerca de cuáles son todos los posibles mecanismos involucrados en esta relación (Bregaint y cols., 2022; Li y cols., 2022b; Liu y cols., 2023).

Entre los hallazgos reportados, no se encontraron publicaciones de estudios originales que evaluaran los mecanismos de muerte neuronal ferroptótica específicamente con los LPS de bacterias periodontopatógenas como *P. gingivalis* o *A. actinomycetemcomitans*. Por este motivo, los criterios de inclusión consideraron todo tipo de LPS, como se abordó en los resultados expuestos en la **tabla 1**, donde la totalidad de los estudios evaluaron los efectos de LPS ya sea de *E. coli*, o de origen bacteriano no especificado. El propósito entonces fue encontrar la potencial relación de LPS en la inducción de ferroptosis en neuronas, para así identificar, describir y estructurar los mecanismos celulares conocidos hasta ahora en la literatura. Esto nos permite orientar el conocimiento en torno a uno de los posibles mecanismos mediante los cuales la periodontitis puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como EA o EP, y sentar las bases para los futuros estudios

experimentales necesarios para demostrar esta relación con bacterias periodontales o sus factores de virulencia.

Interesantemente, los LPS utilizados demostraron en todos los estudios seleccionados la capacidad de producir neuroinflamación, ya sea en cultivos primarios de células cerebrales, cultivos de líneas celulares, o en modelos animales (**Tabla 1**). La neuroinflamación fue acompañada por un aumento del estrés oxidativo, de la respuesta antioxidante, de desregulación del metabolismo del hierro, su acumulación, y posteriormente muerte neuronal o ferroptosis (Im y cols., 2006; You y cols., 2017; Liu y cols., 2018; Yauger y cols., 2019; Fernández-Mendivil y cols., 2021; Chu y cols., 2022; Li y cols., 2022c). Tomando en cuenta estos datos obtenidos de los estudios experimentales, podemos observar en la evidencia una clara tendencia que demuestra la existencia de mecanismos celulares validados que involucran a los LPS como participantes en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas mediante la inducción de muerte neuronal por desregulación del metabolismo del hierro o ferroptosis.

8.1 LPS, ferroptosis en neuronas y neurodegeneración

Los LPS son endotoxinas presentes en la pared celular de bacterias gram (-), en sus vesículas intracelulares o en vesículas de membrana externa (Zamyatina y Heine, 2020; Pussinen y cols., 2022). Estos factores de virulencia son reconocidos como PAMPs, y activan PRRs como los TLRs, expresados en microglías, astrocitos y neuronas (Fiebich y cols., 2018; Zindel y Kubes, 2019; Zamyatina y Heine, 2020; Cui y cols., 2021). Los LPS son potentes inductores de la respuesta inmune innata (Zamyatina y Heine, 2020; Pussinen y cols., 2022), y son ampliamente usados en modelos experimentales de neuroinflamación y neurodegeneración como EA y EP, entre otros (Batista y cols., 2019; Bregaint y cols., 2022).

A pesar de que múltiples estudios evalúan el efecto de LPS en modelos experimentales de neurodegeneración, una proporción muy menor de ellos analizan su impacto en el metabolismo del hierro (Batista y cols., 2019; Bregaint y cols., 2022), cuyo rol en las enfermedades neurodegenerativas adquiere cada

vez mayor relevancia (Ward y cols., 2014; Masaldan y cols., 2019; Gleitze y cols., 2021; Urrutia y cols., 2021).

Por consiguiente, esta revisión estudió esta relación, donde a pesar de la falta de sistematización en la evaluación del estado del metabolismo del hierro en el CNS ante estímulos inflamatorios como LPS en la mayoría de los estudios, se identificaron mecanismos celulares comunes e interrelacionados demostrados en aquellos que sí lo evaluaron, ya sea como ferroptosis, o como desregulación del metabolismo del hierro.

8.1.1 La vía de la respuesta inflamatoria

Los LPS son capaces de generar una respuesta inflamatoria en el CNS, especialmente en microglías y astrocitos, las cuales son las células que participan de la respuesta inmune en el cerebro (Lucin y Wyss-Coray, 2009; Fiebich y cols., 2018; Hickman y cols., 2018; Li y Barres, 2018). La llegada de estímulos inflamatorios como LPS al CNS desencadena una respuesta neuroinflamatoria que presenta diversos marcadores celulares y moleculares (Lucin y Wyss-Coray, 2009; Li y Barres, 2018; Urrutia y cols., 2021). Entre ellos encontramos la activación de los astrocitos (Lucin y Wyss-Coray, 2009; Li y Barres, 2018), y la activación de las microglías con su fenotipo proinflamatorio M1, pasando de un fenotipo ramificado a uno ameboide (Lucin y Wyss-Coray, 2009; Li y Barres, 2018; Urrutia y cols., 2021). La inducción de estos cambios fenotípicos en las células genera la secreción de mediadores proinflamatorios y especies oxidantes, como las citoquinas IL-1 β , IL-6 y TNF α , así como de NO respectivamente (Urrutia y cols., 2021). Ellos participan de la defensa del hospedero ante estímulos potencialmente dañinos como endotoxinas u otros factores de virulencia bacterianos, pero también se ha visto que la sobreactivación de esta respuesta inflamatoria y la inflamación crónica de bajo grado participan en el inicio y desarrollo de procesos neurodegenerativos (Hickman y cols., 2018; Li y cols., 2022b).

Esta respuesta inflamatoria también altera el metabolismo del hierro, como fue demostrado tanto en los experimentos *in vitro*, como en los experimentos en animales expuestos en la **tabla 1**. En los estudios se observó

la activación microglial o astrocítica, y la subsecuente secreción de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6 o TNF α en cultivos celulares o en los tejidos cerebrales de animales expuestos a LPS. Como pudimos observar en los resultados obtenidos de los estudios (**Tabla 1**), esta respuesta inflamatoria estuvo presente en todos los experimentos en los cuales el LPS indujo alteraciones en la regulación del hierro y muerte neuronal, y en gran número de casos estuvo acompañada también de una respuesta antioxidante aumentada. La acumulación de hierro, la muerte neuronal, y el deterioro cognitivo y motor observados incluso en los estudios que se centraron en las otras vías que se detallan posteriormente, también ocurrieron como consecuencia de esta respuesta inflamatoria inicial exacerbada, siendo ésta por lo tanto la puerta de entrada a la activación de las demás vías descritas.

En resumen, los resultados obtenidos nos permiten establecer que la respuesta inflamatoria es una vía fundamental mediante la cual el LPS logra inducir la desregulación del metabolismo del hierro asociada a muerte neuronal y neurodegeneración.

8.1.2 La vía de la respuesta antioxidante

La respuesta inflamatoria desencadena a su vez la respuesta antioxidante, las que están mutuamente relacionadas a través de las ROS/RNS y mediadores proinflamatorios (Urrutia y cols., 2021; Li y cols., 2022c). Dentro de esta misma línea, se describió que la exposición a LPS aumenta el estrés oxidativo dentro de la célula, que resulta en la acumulación de hierro y la muerte neuronal como ferroptosis asociada a neurodegeneración (Im y cols., 2006; Yauger y cols., 2019; Fernández-Mendivil y cols., 2021; Chu y cols., 2022; Li y cols., 2022c).

Este aumento descrito del estrés oxidativo inducido por LPS, además de generar daño celular y mitocondrial, produjo un agotamiento de GSH y GPX4, del sistema X c^- , y un aumento en la producción de peróxidos lipídicos, las que son alteraciones características de la muerte celular por ferroptosis (Hirschhorn y Stockwell, 2019; Chen y cols., 2020; Qian y Ke, 2020; Gleitze y cols., 2021; Du y Guo, 2022). En este sentido, el estudio de Li y cols. (2022), que también evaluó

el componente inflamatorio de esta vía, corroboró que la vía inflamatoria está asociada a cambios en el equilibrio oxidativo que llevan a la muerte neuronal ferroptótica (Li y cols., 2022c). Mientras, la respuesta antioxidante exacerbada que induce la sobreexpresión de HO-1 microglial, una de las principales enzimas antioxidantes que degrada la hemoglobina produciendo biliverdina, CO y hierro, aporta a la acumulación del LIP, induciendo un aumento del estrés oxidativo, ferroptosis en hipocampo y deterioro cognitivo, mediante la sobreactivación de Nrf2 (Fernández-Mendivil y cols., 2021).

Estos resultados apuntan a que la inducción de una respuesta inflamatoria aumentada sería responsable de generar mayor estrés oxidativo y con ello, un desequilibrio en la respuesta antioxidante asociado a la acumulación de hierro, provocando muerte neuronal y neurodegeneración, probablemente a través de la peroxidación lipídica y, por tanto, por la ferroptosis.

8.1.3 La vía de la S-nitrosilación

DMT1 es una de las principales proteínas transportadoras de hierro al interior de la célula (Qian y Ke, 2019; Gleitze y cols., 2021; Urrutia y cols., 2021; Chen y cols., 2022). En cultivos de líneas celulares, en ratones transgénicos y en cerebros humanos de pacientes con EP se describió que DMT1 puede ser S-nitrosilado (SNO-DMT1), aumentando así su actividad sin incremento en la cantidad de esta proteína (Liu y cols., 2018). Interesantemente, los experimentos en animales demostraron que la S-nitrosilación de DMT1 aumentaba tras la microinyección de LPS en SNpc debido al aumento inducido de NO como parte de la respuesta inflamatoria a éste, que fue acompañado por un aumento de la deposición de hierro en la SN, la pérdida de neuronas dopaminérgicas y déficit motor (Liu y cols., 2018). Esta vía reviste cierto interés en cuanto el NO es un mediador que participa en la respuesta inflamatoria clásica de microglías ante esta endotoxina (Lijia y cols., 2012; Zhao y cols., 2019; Urrutia y cols., 2021), y que además está involucrado en la regulación del metabolismo del hierro en condiciones neuroinflamatorias, ya sea protegiendo a las microglías de la peroxidación lipídica (Du y Guo, 2022), o induciendo la activación de las IRP para unirse a los elementos sensibles al hierro (IRE) en el ARNm de TfR y DMT1,

aumentando el ingreso de hierro a la célula (Gleitze y cols., 2021; Urrutia y cols., 2021).

Estos datos dan luces de una de las formas en las que, mediante la activación inicial de la respuesta inflamatoria, el LPS podría incrementar a través de DMT1 la acumulación de hierro intracelular, y con ello aumentar el estrés oxidativo, sobreactivar la respuesta antioxidante, inducir la peroxidación lipídica y finalmente la muerte neuronal ferroptótica de una manera complementaria, simultánea y posiblemente aditiva. Sin embargo, se requiere de más estudios que indaguen en este mecanismo en profundidad.

8.1.4 La vía IL-6/STAT3/hepcidina

De manera estrechamente relacionada con la respuesta inflamatoria, se identificó entre los estudios seleccionados la vía IL-6/STAT3/hepcidina, que consiste en la activación del receptor de IL-6 (IL-6R) por medio de su agonista IL-6, citoquina secretada en la respuesta inflamatoria ante LPS (Ganz y Nemeth, 2015; You y cols., 2017; Zhang y cols., 2017; Ma y cols., 2018), y presente en el cerebro de pacientes con EA (Chaudhary y cols., 2021). La activación del IL6-R estimula la Janus quinasa 1 (JAK1), la cual fosforila el factor de transcripción STAT3, provocando la transcripción del gen HAMP que codifica para hepcidina (Ganz y Nemeth, 2015). La hepcidina es una hormona peptídica antimicrobiana reguladora del hierro en el organismo, su expresión es inducida por la inflamación y presenta múltiples mecanismos de acción en los distintos tejidos (Ganz, 2006; Ganz y Nemeth, 2015; Ma y cols., 2018; Qian y Ke, 2020). Hepcidina se une a Fpn1 e induce su internalización y degradación (Nemeth y cols., 2004), por lo que es un regulador negativo de esta proteína exportadora de hierro, favoreciendo la acumulación de este ión al interior de la célula (You y cols., 2017).

Este mecanismo fue evaluado en un número importante de los estudios seleccionados en esta revisión (Wang y cols., 2008; Urrutia y cols., 2013; Qian y cols., 2014; You y cols., 2017; Zhang y cols., 2017; Ma y cols., 2018; Pandur y cols., 2019). En ellos, el LPS indujo una respuesta inflamatoria en microglías o astrocitos, los que fueron activados, polarizándose hacia su fenotipo

proinflamatorio y secretando citoquinas como TNF α e IL-6 (Qian y cols., 2014; You y cols., 2017; Pandur y cols., 2019). Al activar esta vía, las glías y en menor medida las neuronas, secretaron hepcidina, induciendo la desregulación de Fpn1 y la consecuente acumulación de hierro en las neuronas (Urrutia y cols., 2013; You y cols., 2017). Esto a su vez indujo las alteraciones deletéreas en el estrés oxidativo, la respuesta antioxidante, la muerte neuronal y la neurodegeneración que ya hemos analizado en las otras vías (You y cols., 2017). Todos los estudios demostraron estas alteraciones descritas, apoyando significativamente la teoría de la inducción de esta vía por LPS como un mecanismo que participa en la muerte neuronal ferroptótica.

Los estudios de Urrutia y cols. (2013), Qian y cols. (2014), y You y cols. (2017) propusieron además mecanismos celulares específicos mediante los cuales esta vía ocurre en base a las demostraciones experimentales que sustentan (**Figuras 3 - 5**). Estos modelos, a modo de síntesis, proponen que el efecto de la respuesta inflamatoria inducida por LPS en la secreción glial de hepcidina, particularmente la de astrocitos, genera los efectos previamente descritos en la acumulación intracelular de hierro por disminución de Fpn1, acompañada de un eventual aumento de DMT1. En este sentido, el modelo propuesto por You y cols. en 2017, a diferencia de los anteriores, explica más en detalle las interacciones determinadas entre microglías, astrocitos y neuronas, los cuales desempeñarían papeles definidos en esta vía. Este grupo demostró que el LPS, activando el fenotipo proinflamatorio de microglías, indujo la secreción microglial de IL-6 y con ello la expresión de hepcidina fundamentalmente en los astrocitos, de la misma forma que lo demostrado por Urrutia y cols. (2013). Esta secreción astrocítica de hepcidina sería la que provoca la disminución de Fpn1 en las neuronas, el aumento del hierro intracelular, y finalmente la muerte neuronal en corteza e hipocampo por acumulación tóxica de hierro (**Figura 5**) (You y cols., 2017).

Si bien los modelos propuestos por estos grupos guardan ciertas diferencias, por ejemplo, en cuanto a la descripción de las glías involucradas y en el detalle con el que aborda las alteraciones de las proteínas transportadoras de hierro DMT1 y Fpn1 en los distintos tipos celulares, finalmente terminan por concluir lo mismo: LPS induce acumulación de hierro en la neurona por desregulación de la exportación de hierro de Fpn1 mediante la acción de

hepcidina (Urrutia y cols., 2013; Qian y cols., 2014), lo que resulta en la muerte de neuronas en corteza e hipocampo (You y cols., 2017).

Esta vía también fue apoyada por Ma y cols. (2018) y Zhang y cols. (2017), quienes demostraron que el aumento de hepcidina inducido por LPS en el cerebro es dependiente de la acción de IL-6 y de la fosforilación de STAT3, mediante la experimentación en ratones *knockout* para IL-6, y en cultivos primarios de neuronas y astrocitos de estos.

Podemos reconocer que en la vía de la hepcidina inducida por IL-6, la respuesta inflamatoria presenta un rol crucial, evidenciado por su capacidad para inducir la secreción de hepcidina, la que tendría un papel importante como intermediario en la ferroptosis neuronal. De este modo, la respuesta inflamatoria inducida por LPS en un inicio, aumentaría la secreción de hepcidina, para luego generar la acumulación de hierro y el aumento del estrés oxidativo, que en conjunto con la desregulación de la respuesta antioxidante permitiría el aumento de la peroxidación lipídica y finalmente la ferroptosis de las neuronas.

A pesar de todos estos datos es necesario tomar en consideración que, si bien la hepcidina puede presentar estos efectos deletéreos en las neuronas, dadas sus propiedades antiinflamatorias esta proteína ha demostrado reducir los niveles de citoquinas proinflamatorias como IL-6 y TNF α , y la activación de astrocitos y microglías en respuesta a estímulos inflamatorios como el péptido A β en cultivos primarios cerebrales de rata y en hipocampo de ratones (Urrutia y cols., 2017). Además, se ha visto que la hepcidina junto con su receptor Fpn1, presentan una expresión menor en el cerebro de personas con EA, con una tendencia a agruparse en torno a neuritas de morfología anormal en el hipocampo (Raha y cols., 2014). Como se puede inferir de esto, este tema es aún controversial (Wang y cols., 2022b), ya que otros estudios han demostrado un aumento de los niveles de hepcidina y una disminución en la expresión de Fpn1 con acumulación de hierro, que aumenta con la progresión de la enfermedad en el cerebro de pacientes con EA, y que además se encuentra asociada a activación microglial y secreción de IL-6 (Chaudhary y cols., 2021). Las discrepancias entre los efectos neuroprotectores o neurotóxicos de hepcidina podrían explicarse por las diferencias entre los estudios en células aisladas que no incorporan todas las interacciones entre las células involucradas,

y por los diferentes efectos que presenta dependiendo del espacio donde sea secretada, como en células endoteliales o en astrocitos (Urrutia y cols., 2021). Por esto, es necesario esclarecer las funciones diferenciales que desempeña la hepcidina a nivel sistémico y local, y su efecto en la regulación del metabolismo del hierro en el cerebro de pacientes con EA (Qian y Ke, 2019, 2020; Urrutia y cols., 2021; Wang y cols., 2022b), tanto en su rol fisiológico como en el desarrollo de las patologías asociadas a neuroinflamación, acumulación de hierro y neurodegeneración, entendiéndose como un proceso dinámico, progresivo y altamente complejo.

En síntesis, y a pesar de las pequeñas diferencias en cuanto a los detalles de los mecanismos celulares que participan en este proceso, de las diferencias metodológicas entre ellos, y de la variabilidad entre los modelos experimentales utilizados que podrían explicar estas diferencias, los 21 estudios seleccionados apoyan la hipótesis de que los LPS son capaces de desencadenar vías celulares y moleculares que inducen la acumulación de hierro en las neuronas, y que provocan la muerte de éstas por acumulación de hierro o ferroptosis. Como se vio, además, las distintas vías estudiadas en las publicaciones seleccionadas en lugar de ser mutuamente excluyentes parecieran ser complementarias e incluso ocurrir simultáneamente, ya que presentan marcadores comunes. La respuesta inflamatoria inducida por LPS pareciera ser la vía desencadenante de las demás, al estar presente en el desarrollo de todas ellas y por su capacidad para inducir la secreción de hepcidina, la S-nitrosilación de DMT1, y desregular la respuesta antioxidante. Estos procesos ocurrirían de manera simultánea y complementaria posteriormente a la inducción de la respuesta inflamatoria, aumentando la acumulación de hierro intracelular, el estrés oxidativo, la peroxidación lipídica y finalmente, la ferroptosis neuronal con neurodegeneración.

8.2 Periodontitis, LPS de periodontopatógenos y ferroptosis

Debido a la ausencia de estudios experimentales que comprueben específicamente la capacidad de los LPS de periodontopatógenos para inducir ferroptosis en neuronas, y conociendo la capacidad de otros LPS para desencadenar mecanismos ferroptóticos en estas células, como ya hemos revisado, se hace necesario discutir acerca de la evidencia disponible en la

literatura sobre la capacidad de los LPS de periodontopatógenos para inducir ferroptosis en otros tejidos, como en la periodontitis a nivel local.

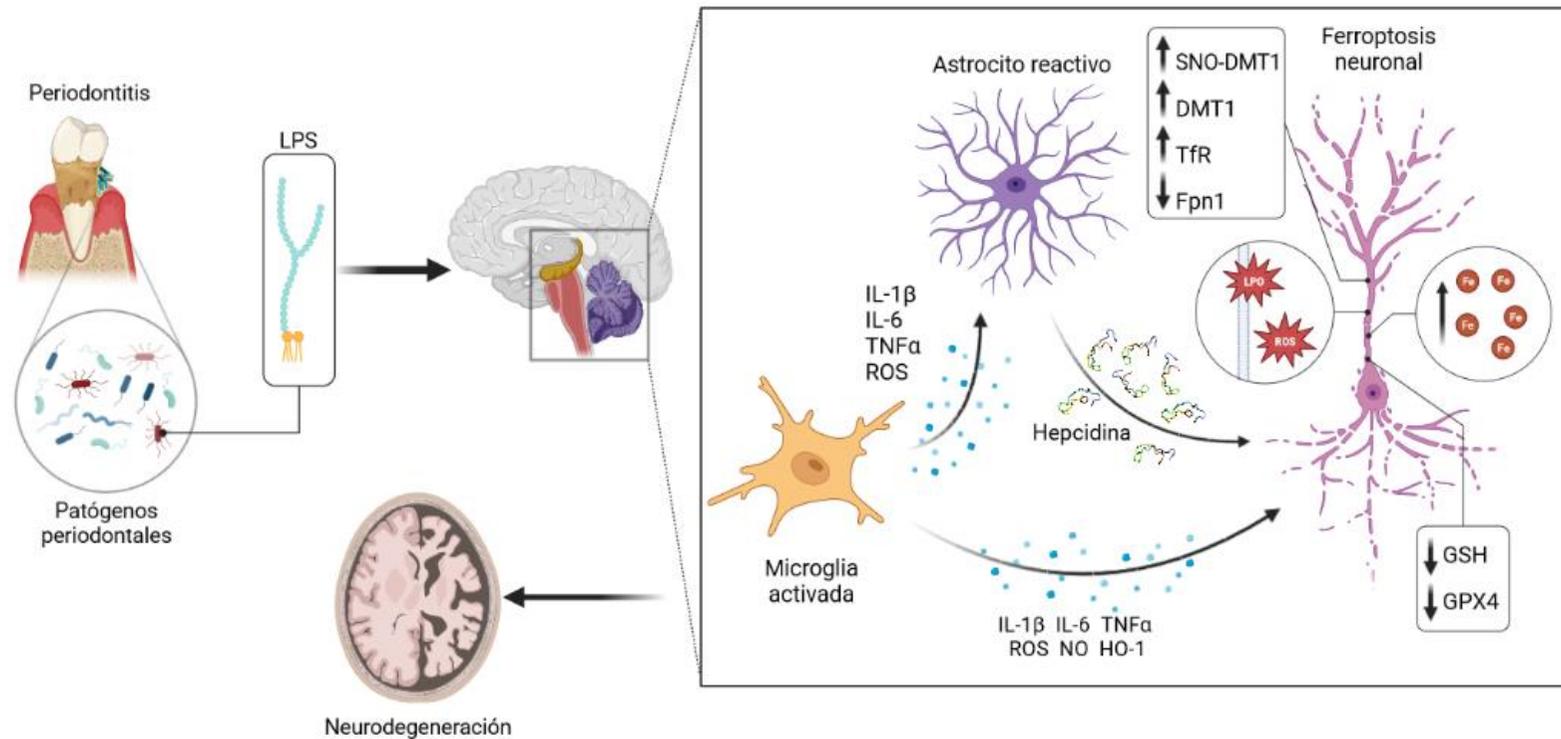
El estudio de la ferroptosis como mecanismo que participa en la patogenia de la periodontitis es una tendencia muy reciente y cada vez más estudiada (Chen y cols., 2022). Estos estudios abarcan modelos experimentales tanto *in vitro* e *in vivo* (Zhao y cols., 2020; Guo y cols., 2021; Qiao y cols., 2022) como *in silico* (Pan y cols., 2022, 2023; Zhang y cols., 2022a, 2022b; Xu y cols., 2023).

El LPS de *P. gingivalis* indujo ferroptosis en HGF y en el tejido gingival de ratas con periodontitis (Qiao y cols., 2022). Esto es apoyado por estudios bioinformáticos que revelan la activación de genes en común entre la enfermedad periodontal y la ferroptosis en los tejidos periodontales (Zhang y cols., 2022a, 2022b; Pan y cols., 2023; Xu y cols., 2023), mientras que la determinación de estos genes relacionados a ferroptosis ha presentado un potencial valor para el diagnóstico y la clasificación de la periodontitis (Zhang y cols., 2022b; Xu y cols., 2023). Estos estudios han demostrado la asociación de genes comunes no sólo entre periodontitis y ferroptosis, sino que también con diabetes mellitus tipo 2, lo cual ayudaría a entender en mayor profundidad la patogenia común entre estas enfermedades en conjunto con la ferroptosis (Pan y cols., 2022).

Interesantemente, en un modelo experimental de periodontitis en cultivos de HGF estimulados con LPS de *E. coli*, el mismo utilizado en los experimentos de los estudios seleccionados en esta revisión, también se observó ferroptosis (Yang y cols., 2022), apoyando la hipótesis de que los LPS periodontales podrían inducir ferroptosis en tejidos gingivales y también en neuronas debido a la similitud comparativa de los efectos entre estas variantes de LPS en los distintos modelos experimentales abordados.

Todos estos antecedentes respaldan la hipótesis de que *P. gingivalis* y su LPS podrían desregular el metabolismo del hierro e inducir ferroptosis en los tejidos gingivales durante el desarrollo de la periodontitis (Chen y cols., 2022), y posiblemente también en neuronas del cerebro (**Figura 6**). Esto se vuelve de especial interés cuando tomamos en consideración que se ha observado la presencia de LPS de *P. gingivalis* en el cerebro de pacientes con EA (Poole y

cols., 2013), indicando que *P. gingivalis* podría iniciar este mismo proceso ferroptótico en las neuronas (Liu y cols., 2023). Por lo tanto, para responder adecuadamente nuestra pregunta de investigación, es necesario demostrar experimentalmente si los LPS de periodontopatógenos como *P. gingivalis* provocan ferroptosis en neuronas, para lo cual las vías identificadas en esta revisión podrían ser de utilidad en la orientación de las futuras investigaciones.



Created in **BioRender.com** **bio**

Figura 6. Hipótesis de neurodegeneración por ferroptosis neuronal inducida por LPS de bacterias periodontales. Graphical abstract que sintetiza las principales vías implicadas en la ferroptosis neuronal inducida por LPS identificadas en la evidencia, y cómo estas podrían asociarse con los LPS de bacterias periodontales. Se muestran las principales interacciones y vías de señalización entre microglías, astrocitos y neuronas en SN e hipocampo que devienen en ferroptosis neuronal y neurodegeneración. Creado con BioRender.com

8.3 Heterogeneidad de los estudios

Los 21 estudios seleccionados en esta revisión sistemática cualitativa presentaron diseños experimentales tanto *in vivo* en animales, como *in vitro* en cultivos celulares. Estos experimentos demostraron una alta heterogeneidad entre ellos, dada principalmente por las diferencias en su metodología.

Los estudios en cultivos celulares difirieron metodológicamente en cuanto al origen de las poblaciones celulares utilizadas, la cepa de origen de LPS y si fue especificada o no, las dosis y el tiempo de exposición a LPS, la exposición a medios acondicionados de otros cultivos, el uso de moléculas inhibitoras de los efectos de LPS, y los parámetros, mediadores o marcadores celulares y moleculares evaluados.

Los estudios realizados en animales presentaron gran variabilidad metodológica en cuanto a características de los animales sometidos a las pruebas tales como la especie, el sexo, la edad y la cepa. Al igual que en los estudios *in vitro*, los experimentos en ratas o ratones difirieron en el origen del LPS, su dosis y el tiempo de exposición, la forma y el lugar de administración, el método con el que fueron sacrificados, el uso de modelos transgénicos, la exposición a drogas inhibitoras de los efectos de LPS, las distintas regiones del cerebro evaluadas, y los parámetros, mediadores o marcadores celulares y moleculares que fueron medidos.

Otras fuentes de heterogeneidad tienen que ver con que no todos los estudios cuantificaron los resultados de las tinciones o imágenes inmunohistoquímicas de los cortes de cerebro, lo que tampoco permite realizar un análisis estadístico comparativo. La mayoría de los estudios tampoco realizó controles negativos, tales como silenciamiento o *knockout* de ciertos genes o proteínas, ni el uso de moléculas inhibitorias. Además de esto, también pudimos encontrar una gran heterogeneidad en los términos MeSH y palabras clave informadas en las publicaciones para realizar la búsqueda de éstas, lo que implica una especial dificultad debido a que gran cantidad de estudios efectivamente relacionados entre sí no pudieron ser agrupados adecuadamente en torno a un mismo motor de búsqueda estandarizado.

Debido a esta alta heterogeneidad metodológica no fue posible realizar un metaanálisis de los estudios seleccionados.

8.4 Análisis de riesgo de sesgo

Para la evaluación del riesgo de sesgo de los estudios experimentales realizados en animales se utilizó la herramienta SYRCLE (Hooijmans y cols., 2014), la cual calificó con un “Sí” a la mayoría de los estudios en los dominios 2, 4, 8, 9 y 10; con “Poco claro” a la mayoría de los estudios en los dominios 3, 5, 6 y 7; y con un “No” a la mayoría de los estudios en el dominio 1.

Esta evaluación indica que las debilidades metodológicas más fuertes en cuanto al riesgo de presentar algún tipo de sesgo se dieron en la descripción y declaración de los métodos utilizados para generar algún tipo de secuencia de asignación aleatoria de los grupos, lo que implica un riesgo de sesgo de selección. Seguido de esto, otras debilidades estuvieron relacionadas con el cegamiento en esta asignación, el cegamiento de las intervenciones recibidas, la descripción de la aleatorización de la selección de los animales para la evaluación de los resultados, y el cegamiento del evaluador de estos resultados; lo cual corresponde a un riesgo moderado de sesgo de selección, de desempeño y de detección.

Debido a que los demás dominios en su mayoría fueron evaluados positivamente, lo que representa un bajo riesgo de sesgo de selección, de desempeño, de atrición, de reporte y otros, se considera que el nivel de riesgo de sesgo en general para estos estudios es moderado. Adicionalmente, se aconseja tener en cuenta estas debilidades para reducir el riesgo de sesgo de futuros diseños experimentales en animales en esta línea investigativa.

8.5 Limitaciones del estudio

Respecto a las limitaciones de esta revisión, la principal observación a realizar es la falta de estudios que evalúen directamente el efecto de los LPS de periodontopatógenos sobre el metabolismo del hierro y la ferroptosis en neuronas de regiones del cerebro susceptibles a neurodegeneración. Además,

al ser un tema de investigación reciente, aún existen muchos mecanismos controversiales o desconocidos, por lo que esta falta de información dificulta establecer resultados concluyentes.

Una característica inherente a este diseño de estudio es que la evidencia se limita a lo que ha sido previamente estudiado, lo que a su vez está condicionado al conocimiento preexistente, a los estudios disponibles hasta la fecha y a las tendencias en investigación en un tiempo determinado. Por estos motivos, los alcances de esta revisión llegan hasta donde la literatura actual lo permite, sin perjuicio de la capacidad de esta revisión para establecer relaciones conceptuales de la evidencia que permitan la orientación de las líneas investigativas futuras, lo cual admite valoración.

Actualmente, debido a la introducción reciente del concepto de ferroptosis (Dixon y cols., 2012) y de su respectivo término MeSH en 2020, es que no todos los estudios que involucran este tipo de muerte celular o procesos relacionados a ella están agrupados bajo este término, y en general se observa una falta de estandarización en la agrupación de las publicaciones en torno a las palabras clave o los tópicos que tratan sus estudios, lo que dificulta la búsqueda completa de la literatura y hace necesario búsquedas complejas con más de un motor, con el riesgo de excluir estudios potencialmente relevantes.

9. CONCLUSIONES

- Actualmente no existe evidencia en la literatura que demuestre que los LPS de periodontopatógenos pueden participar en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas mediante la inducción de ferroptosis en neuronas.
- Se requieren más estudios que evalúen la capacidad de los LPS de periodontopatógenos de inducir ferroptosis en neuronas y neurodegeneración.
- La literatura actual muestra una clara evidencia de que la neuroinflamación puede ser inducida por los LPS, y que esta neuroinflamación a su vez puede desencadenar una desregulación en el metabolismo del hierro en el cerebro mediada por microglías y astrocitos, produciendo estrés oxidativo, peroxidación lipídica y ferroptosis en neuronas.
- La evidencia actual muestra algunas vías complementarias e interrelacionadas en el estudio de la inducción de este proceso: la vía de la respuesta inflamatoria, la vía de la respuesta antioxidante, la vía de la S-nitrosilación, y la vía IL-6/STAT3/hepcidina.
- La vía de la respuesta inflamatoria sería fundamental en la inducción inicial de las otras vías de acumulación de hierro y ferroptosis neuronal por LPS.
- La desregulación de la respuesta antioxidante podría inducir efectos deletéreos indeseados en el cerebro como la ferroptosis neuronal asociada a neurodegeneración.
- La vía de la S-nitrosilación requiere de una mayor cantidad de estudios, habiéndose encontrado en la literatura sólo uno, el que demuestra que este proceso ocurriría de manera simultánea y complementaria a los demás, y abre la puerta a esta línea investigativa.
- La vía IL-6/STAT3/hepcidina, si bien es la que presenta mayor respaldo en la literatura, requiere de una mayor profundización para aclarar las

controversias y los vacíos que existen hasta ahora respecto a las funciones y los efectos diferenciales de hepcidina en el cerebro en condiciones fisiológicas y en el contexto de neuroinflamación y neurodegeneración, como un proceso complejo, dinámico y progresivo.

- Las vías identificadas en este estudio pueden servir para orientar las líneas de investigación futuras e indagar en esta relación, para así determinar de manera concluyente si los LPS de periodontopatógenos pueden inducir ferroptosis en neuronas y neurodegeneración.
- Se recomienda el uso de las herramientas de análisis de riesgo de sesgo disponibles (Zeng y cols., 2015) como una pauta para el diseño metodológico de estos estudios, y así generar evidencia fuerte con un bajo riesgo de sesgo.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdalkader, M., Lampinen, R., Kanninen, K. M., Malm, T. M., y Liddell, J. R. (2018). Targeting Nrf2 to suppress ferroptosis and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration. En *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 12, Número JUL). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00466>
- Alayan, J., Gemmell, E., Ford, P., Hamlet, S., Bird, P. S., y cols. (2007). The role of cytokines in a *Porphyromonas gingivalis*-induced murine abscess model. *Oral microbiology and immunology*, 22(5), 304–312. <https://doi.org/10.1111/J.1399-302X.2007.00360.X>
- Alvarez, C., Monasterio, G., Cavalla, F., Córdova, L. A., Hernández, M., y cols. (2019). Osteoimmunology of oral and maxillofacial diseases: Translational applications based on biological mechanisms. En *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Número JULY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01664>
- Alzheimer's Association. (2014). 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 10(2). <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.02.001>
- Alzheimer's Association. (2022). 2022 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 18(4), 700–789. <https://doi.org/10.1002/ALZ.12638>
- Amaral, E. P., Costa, D. L., Namasivayam, S., Riteau, N., Kamenyeva, O., y cols. (2019). A major role for ferroptosis in *Mycobacterium tuberculosis*-induced cell death and tissue necrosis. *Journal of Experimental Medicine*, 216(3), 556–570. <https://doi.org/10.1084/JEM.20181776>
- Ayton, S., Faux, N. G., Bush, A. I., Weiner, M. W., Aisen, P., y cols. (2015). Ferritin levels in the cerebrospinal fluid predict Alzheimer's disease outcomes and are regulated by APOE. *Nature Communications*, 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms7760>
- Ayton, S., Wang, Y., Diouf, I., Schneider, J. A., Brockman, J., y cols. (2020). Brain iron is associated with accelerated cognitive decline in people with Alzheimer

pathology. *Molecular psychiatry*, 25(11), 2932–2941.
<https://doi.org/10.1038/S41380-019-0375-7>

Batista, C. R. A., Gomes, G. F., Candelario-Jalil, E., Fiebich, B. L., y de Oliveira, A. C. P. (2019). Lipopolysaccharide-induced neuroinflammation as a bridge to understand neurodegeneration. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Número 9). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/ijms20092293>

Belaidi, A. A., y Bush, A. I. (2016). Iron neurochemistry in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: targets for therapeutics. En *Journal of Neurochemistry* (pp. 179–197). Blackwell Publishing Ltd.
<https://doi.org/10.1111/jnc.13425>

Berg, D., y Youdim, M. B. H. (2006). Role of iron in neurodegenerative disorders. *Topics in magnetic resonance imaging: TMRI*, 17(1), 5–17.
<https://doi.org/10.1097/01.RMR.0000245461.90406.AD>

Bernabe, E., Marcenes, W., Hernandez, C. R., Bailey, J., Abreu, L. G., y cols. (2020). Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. En *Journal of Dental Research* (Vol. 99, Número 4, pp. 362–373). SAGE Publications Inc.
<https://doi.org/10.1177/0022034520908533>

Bhatt, S., Puli, L., y Patil, C. R. (2020). Role of reactive oxygen species in the progression of Alzheimer's disease. *Drug Discovery Today*, 00.
<https://doi.org/10.1016/j>

Blasi, I., Korostoff, J., Dhingra, A., Reyes-Reveles, J., Shenker, B. J., y cols. (2016). Variants of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide alter lipidation of autophagic protein, microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3. *Molecular Oral Microbiology*, 31(6), 486–500.
<https://doi.org/10.1111/omi.12141>

Borges, T. de F., Regalo, S. C., Taba, M., Siéssere, S., Mestriner, W., y cols. (2013). Changes in Masticatory Performance and Quality of Life in

Individuals With Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 84(3), 325–331. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120069>

Botelho, J., Machado, V., Mendes, J. J., y Mascarenhas, P. (2021). Causal Association between Periodontitis and Parkinson's Disease: A Bidirectional Mendelian Randomization Study. *Genes*, 12(5), 772. <https://doi.org/10.3390/genes>

Botelho, J., Mascarenhas, P., Mendes, J. J., y Machado, V. (2020). Network protein interaction in parkinson's disease and periodontitis interplay: A preliminary bioinformatic analysis. *Genes*, 11(11), 1–51. <https://doi.org/10.3390/genes11111385>

Bradley-Whitman, M. A., y Lovell, M. A. (2015). Biomarkers of lipid peroxidation in Alzheimer disease (AD): an update. En *Archives of Toxicology* (Vol. 89, Número 7, pp. 1035–1044). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1517-6>

Bregaint, S., Boyer, E., Fong, S. B., Meuric, V., Bonnaure-Mallet, M., y cols. (2022). Porphyromonas gingivalis outside the oral cavity. En *Odontology* (Vol. 110, Número 1). Springer Japan. <https://doi.org/10.1007/s10266-021-00647-8>

Bullon, P., Cordero, M. D., Quiles, J. L., Morillo, J. M., Ramirez-Tortosa, M. D. C., y cols. (2011). Mitochondrial dysfunction promoted by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide as a possible link between cardiovascular disease and periodontitis. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(10), 1336–1343. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2011.02.018>

Buset, S. L., Walter, C., Friedmann, A., Weiger, R., Borgnakke, W. S., y cols. (2016). Are periodontal diseases really silent? A systematic review of their effect on quality of life. En *Journal of Clinical Periodontology* (Vol. 43, Número 4, pp. 333–344). Blackwell Munksgaard. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12517>

Carvajal, P. (2016). Enfermedades periodontales como un problema de salud pública: el desafío del nivel primario de atención en salud. *Revista Clínica*

de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral, 9(2), 177–183.
<https://doi.org/10.1016/j.piro.2016.07.001>

Chaudhary, S., Ashok, A., McDonald, D., Wise, A. S., Kritikos, A. E., y cols. (2021). Upregulation of local hepcidin contributes to iron accumulation in alzheimer's disease brains. *Journal of Alzheimer's Disease*, 82(4), 1487–1497. <https://doi.org/10.3233/JAD-210221>

Chen, K., Ma, S., Deng, J., Jiang, X., Ma, F., y cols. (2022). Ferroptosis: A New Development Trend in Periodontitis. *Cells*, 11(21), 3349. <https://doi.org/10.3390/cells11213349>

Chen, S., Chen, Y., Zhang, Y., Kuang, X., Liu, Y., y cols. (2020). Iron Metabolism and Ferroptosis in Epilepsy. En *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.601193>

Chi, H., Chang, H. Y., y Sang, T. K. (2018). Neuronal Cell Death Mechanisms in Major Neurodegenerative Diseases. *International journal of molecular sciences*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/IJMS19103082>

Choi, S., Kim, K., Chang, J., Kim, S. M., Kim, S. J., y cols. (2019). Association of Chronic Periodontitis on Alzheimer's Disease or Vascular Dementia. *Journal of the American Geriatrics Society*, 67(6), 1234–1239. <https://doi.org/10.1111/jgs.15828>

Chu, J., Jiang, Y., Zhou, W., Zhang, J., Li, H., y cols. (2022). Acetaminophen alleviates ferroptosis in mice with sepsis-associated encephalopathy via the GPX4 pathway. *Human and Experimental Toxicology*, 41. <https://doi.org/10.1177/09603271221133547>

Clark, D., Kotronia, E., y Ramsay, S. E. (2021). Frailty, aging, and periodontal disease: Basic biologic considerations. *Periodontology 2000*, 87(1), 143–156. <https://doi.org/10.1111/PRD.12380>

Crapper McLachlan DR, Dalton AJ, Truck TP, Bell MY, Smith WL, y cols. (1991). Intramuscular desferrioxamine in patients with Alzheimer's disease. *The Lancet*, 337(8753), 1304–1308. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)92978-b](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)92978-b)

- Cui, Y., Zhang, Z., Zhou, X., Zhao, Z., Zhao, R., y cols. (2021). Microglia and macrophage exhibit attenuated inflammatory response and ferroptosis resistance after RSL3 stimulation via increasing Nrf2 expression. *Journal of Neuroinflammation*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02231-x>
- Curtis, M. A., Percival, R. S., Devine, D., Darveau, R. P., Coats, S. R., y cols. (2011). Temperature-dependent modulation of Porphyromonas gingivalis lipid A structure and interaction with the innate host defenses. *Infection and immunity*, 79(3), 1187–1193. <https://doi.org/10.1128/IAI.00900-10>
- Darveau, R. P., Pham, T. T. T., Lemley, K., Reife, R. A., Bainbridge, B. W., y cols. (2004). Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infection and immunity*, 72(9), 5041–5051. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.9.5041-5051.2004>
- Del Rey, M. Q., y Mancias, J. D. (2019). NCOA4-Mediated Ferritinophagy: A Potential Link to Neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2019.00238>
- Díaz-Zúñiga, J., More, J., Melgar-Rodríguez, S., Jiménez-Unión, M., Villalobos-Orchard, F., y cols. (2020). Alzheimer's Disease-Like Pathology Triggered by Porphyromonas gingivalis in Wild Type Rats Is Serotype Dependent. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.588036>
- Díaz-Zúñiga, J., Muñoz, Y., Melgar-Rodríguez, S., More, J., Bruna, B., y cols. (2019). Serotype b of Aggregatibacter actinomycetemcomitans triggers pro-inflammatory responses and amyloid beta secretion in hippocampal cells: a novel link between periodontitis and Alzheimer's disease? *Journal of Oral Microbiology*, 11(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1586423>
- Dixon, D. R., y Darveau, R. P. (2005). Lipopolysaccharide heterogeneity: Innate host responses to bacterial modification of lipid A structure. En *Journal of Dental Research* (Vol. 84, Número 7, pp. 584–595). <https://doi.org/10.1177/154405910508400702>

- Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., y cols. (2012). Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149(5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Dixon, S. J., Patel, D., Welsch, M., Skouta, R., Lee, E., y cols. (2014). Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis. *eLife*, 3(3). <https://doi.org/10.7554/ELIFE.02523>
- Dixon, S. J., y Stockwell, B. R. (2014). The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nature chemical biology*, 10(1), 9–17. <https://doi.org/10.1038/NCHEMBIO.1416>
- Do Van, B., Gouel, F., Jonneaux, A., Timmerman, K., Gelé, P., y cols. (2016). Ferroptosis, a newly characterized form of cell death in Parkinson's disease that is regulated by PKC. *Neurobiology of Disease*, 94, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.05.011>
- Dominy, S. S., Lynch, C., Ermini, F., Benedyk, M., Marczyk, A., y cols. (2019). Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Science advances*, 5(1). <https://www.science.org>
- Du, Y., y Guo, Z. (2022). Recent progress in ferroptosis: inducers and inhibitors. *Cell Death Discovery*, 8(1), 501. <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01297-7>
- Eskan, M. A., Jotwani, R., Abe, T., Chmelar, J., Lim, J. H., y cols. (2012). The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss. *Nature immunology*, 13(5), 465–473. <https://doi.org/10.1038/NI.2260>
- Fernandes Costa, M. J., Dantas, I., De Araújo, T., Da, L., Alves, R., y cols. (2021). Relationship of Porphyromonas gingivalis and Alzheimer's disease: a systematic review of pre-clinical studies. *Clin Oral Investig*, 25(3), 796–806. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03764-w/Published>

- Fernández-Mendivil, C., Luengo, E., Trigo-Alonso, P., García-Magro, N., Negrodo, P., y cols. (2021). Protective role of microglial HO-1 blockade in aging: Implication of iron metabolism. *Redox Biology*, 38. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101789>
- Fiebich, B. L., Batista, C. R. A., Saliba, S. W., Yousif, N. M., y de Oliveira, A. C. P. (2018). Role of microglia TLRs in neurodegeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00329>
- Fleury, V., Zekeridou, A., Lazarevic, V., Gaia, N., Giannopoulou, C., y cols. (2021). Oral Dysbiosis and Inflammation in Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 11(2), 619–631. <https://doi.org/10.3233/JPD-202459>
- Galli, S. J., Borregaard, N., y Wynn, T. A. (2011). Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: Macrophages, mast cells and neutrophils. En *Nature Immunology* (Vol. 12, Número 11, pp. 1035–1044). <https://doi.org/10.1038/ni.2109>
- Gamonal, J., Mendoza, C., Espinoza, I., Muñoz, A., Urzúa, I., y cols. (2010). Clinical Attachment Loss in Chilean Adult Population: First Chilean National Dental Examination Survey. *Journal of Periodontology*, 81(10), 1403–1410. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100148>
- Ganz, T. (2006). Hepcidin-A Peptide Hormone at the Interface of Innate Immunity and Iron Metabolism. En *CTMI* (Vol. 306). Springer-Verlag.
- Ganz, T., y Nemeth, E. (2015). Iron homeostasis in host defence and inflammation. En *Nature Reviews Immunology* (Vol. 15, Número 8, pp. 500–510). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri3863>
- Gao, M., Yi, J., Zhu, J., Minikes, A. M., Monian, P., y cols. (2019). Role of Mitochondria in Ferroptosis. *Molecular Cell*, 73(2), 354-363.e3. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.10.042>
- Gleitze, S., Paula-Lima, A., Núñez, M. T., y Hidalgo, C. (2021). The calcium–iron connection in ferroptosis-mediated neuronal death. En *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 175, pp. 28–41). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.08.231>

- Graziani, F., Music, L., Bozic, D., y Tsakos, G. (2019). Is periodontitis and its treatment capable of changing the quality of life of a patient? *British Dental Journal*, 227(7), 621–625. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0735-3>
- Guiney, S. J., Adlard, P. A., Bush, A. I., Finkelstein, D. I., y Ayton, S. (2017). Ferroptosis and cell death mechanisms in Parkinson's disease. En *Neurochemistry International* (Vol. 104, pp. 34–48). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.01.004>
- Gunesch, S., Hoffmann, M., Kiermeier, C., Fischer, W., Pinto, A. F. M., y cols. (2020). 7-O-Esters of taxifolin with pronounced and overadditive effects in neuroprotection, anti-neuroinflammation, and amelioration of short-term memory impairment in vivo. *Redox Biology*, 29. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101378>
- Guo, W., Zhao, Y., Li, H., y Lei, L. (2021). NCOA4-mediated ferritinophagy promoted inflammatory responses in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 56(3), 523–534. <https://doi.org/10.1111/jre.12852>
- Hajishengallis, G. (2014). Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: Keystones, pathobionts, and host response. En *Trends in Immunology* (Vol. 35, Número 1, pp. 3–11). <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.09.001>
- Hajishengallis, G., Chavakis, T., y Lambris, J. D. (2020). Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. En *Periodontology 2000* (Vol. 84, Número 1, pp. 14–34). Blackwell Munksgaard. <https://doi.org/10.1111/prd.12331>
- Hajishengallis, G., Darveau, R. P., y Curtis, M. A. (2012). The keystone-pathogen hypothesis. En *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 10, Número 10, pp. 717–725). <https://doi.org/10.1038/nrmicro2873>
- Hajishengallis, G., y Lamont, R. J. (2012). Beyond the red complex and into more complexity: The polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Molecular Oral Microbiology*, 27(6), 409–419. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2012.00663.x>

- Halliwell, B. (2006). Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, 141(2), 312–322. <https://doi.org/10.1104/PP.106.077073>
- Hambright, W. S., Fonseca, R. S., Chen, L., Na, R., y Ran, Q. (2017). Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration. *Redox Biology*, 12, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.021>
- Heneka, M. T., Carson, M. J., Khoury, J. El, Landreth, G. E., Brosseron, F., y cols. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. En *The Lancet Neurology* (Vol. 14, Número 4, pp. 388–405). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Herath, T. D. K., Wang, Y., Seneviratne, C. J., Darveau, R. P., Wang, C. Y., y cols. (2013). The expression and regulation of matrix metalloproteinase-3 is critically modulated by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide with heterogeneous lipid A structures in human gingival fibroblasts. *BMC Microbiology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-73>
- Herath, T. D. K., Wang, Y., Seneviratne, C. J., Lu, Q., Darveau, R. P., y cols. (2011). Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide lipid A heterogeneity differentially modulates the expression of IL-6 and IL-8 in human gingival fibroblasts. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(8), 694–701. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01741.x>
- Herbert, B. A., Novince, C. M., y Kirkwood, K. L. (2016). Aggregatibacter actinomycetemcomitans, a potent immunoregulator of the periodontal host defense system and alveolar bone homeostasis. En *Molecular Oral Microbiology* (Vol. 31, Número 3, pp. 207–227). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/omi.12119>
- Hickman, S., Izzy, S., Sen, P., Morsett, L., y El Khoury, J. (2018). Microglia in neurodegeneration. En *Nature Neuroscience* (Vol. 21, Número 10, pp. 1359–1369). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0242-x>

- Higgins, J., y Green, S. (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]*. www.cochrane-handbook.org.
- Hirschhorn, T., y Stockwell, B. R. (2019). The development of the concept of ferroptosis. En *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 133, pp. 130–143). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.043>
- Ho, V. W. H., y Sly, L. M. (2009). Derivation and characterization of murine alternatively activated (m2) macrophages. *Methods in Molecular Biology*, 531, 173–185. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-396-7_12
- Holden, J. A., Attard, T. J., Laughton, K. M., Mansell, A., O'Brien-Simpson, N. M., y cols. (2014). Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide weakly activates M1 and M2 polarized mouse macrophages but induces inflammatory cytokines. *Infection and Immunity*, 82(10), 4190–4203. <https://doi.org/10.1128/IAI.02325-14>
- Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., Bm De Vries, R., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., y cols. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. En *BMC medical research methodology* (Vol. 14, Número 43). <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/14/43>
- Hou, W., Xie, Y., Song, X., Sun, X., Lotze, M. T., y cols. (2016). Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin. *Autophagy*, 12(8), 1425–1428. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1187366>
- Hu, S., Li, S., Ning, W., Huang, X., Liu, X., y cols. (2022). Identifying crosstalk genetic biomarkers linking a neurodegenerative disease, Parkinson's disease, and periodontitis using integrated bioinformatics analyses. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.1032401>
- Hu, Y., Li, H., Zhang, J., Zhang, X., Xia, X., y cols. (2020). Periodontitis Induced by P. gingivalis-LPS Is Associated With Neuroinflammation and Learning and Memory Impairment in Sprague-Dawley Rats. *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00658>

- Huang, X., Atwood, C. S., Hartshorn, M. A., Multhaup, G., Goldstein, L. E., y cols. (1999). The A beta peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction. *Biochemistry*, 38(24), 7609–7616. <https://doi.org/10.1021/BI990438F>
- Huo, J., Cui, Q., Yang, W., y Yuo, W. (2018). LPS induces dopamine depletion and iron accumulation in substantia nigra in rat models of Parkinson's disease. *Int J Clin Exp Pathol*, 11(10), 4942–4949.
- Ide, M., Harris, M., Stevens, A., Sussams, R., Hopkins, V., y cols. (2016). Periodontitis and cognitive decline in Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151081>
- Ilievski, V., Zuchowska, P. K., Green, S. J., Toth, P. T., Ragozzino, M. E., y cols. (2018). Chronic oral application of a periodontal pathogen results in brain inflammation, neurodegeneration and amyloid beta production in wild type mice. *PLoS ONE*, 13(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204941>
- Im, J. Y., Kim, D., Paik, S. G., y Han, P. L. (2006). Cyclooxygenase-2-dependent neuronal death proceeds via superoxide anion generation. *Free Radical Biology and Medicine*, 41(6), 960–972. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.06.001>
- Ishida, N., Ishihara, Y., Ishida, K., Tada, H., Funaki-Kato, Y., y cols. (2017). Periodontitis induced by bacterial infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice. *npj Aging and Mechanisms of Disease*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/s41514-017-0015-x>
- Jakaria, M., Belaidi, A. A., Bush, A. I., y Ayton, S. (2021). Ferroptosis as a mechanism of neurodegeneration in Alzheimer's disease. En *Journal of Neurochemistry* (Vol. 159, Número 5, pp. 804–825). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jnc.15519>
- James, S. L., Abate, D., Abate, K. H., Abay, S. M., Abbafati, C., y cols. (2018). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study

2017. *The Lancet*, 392(10159), 1789–1858. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7)

Jeong, E., Park, J. B., y Park, Y. G. (2021). Evaluation of the association between periodontitis and risk of Parkinson's disease: a nationwide retrospective cohort study. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96147-4>

Jiang, X., Stockwell, B. R., y Conrad, M. (2021). Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. En *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 22, Número 4, pp. 266–282). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00324-8>

Kitaura, H., Marahleh, A., Ohori, F., Noguchi, T., Shen, W. R., y cols. (2020). Osteocyte-related cytokines regulate osteoclast formation and bone resorption. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Número 14). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21145169>

Kose, O., Altin, A., Kurt Bayrakdar, S., Bostan, S. A., Mercantepe, T., y cols. (2021). Influences of periodontitis on hippocampal inflammation, oxidative stress, and apoptosis in rats. *Journal of Periodontal Research*, 56(6), 1154–1162. <https://doi.org/10.1111/jre.12929>

Li, J., Cao, F., Yin, H. liang, Huang, Z. jian, Lin, Z. tao, y cols. (2020). Ferroptosis: past, present and future. *Cell death & disease*, 11(2). <https://doi.org/10.1038/S41419-020-2298-2>

Li, Q., y Barres, B. A. (2018). Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease. En *Nature Reviews Immunology* (Vol. 18, Número 4, pp. 225–242). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.125>

Li, X., Feng, X., Sun, X., Hou, N., Han, F., y cols. (2022a). Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2019. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 1120. <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2022.937486/BIBTEX>

Li, X., Kiprowska, M., Kansara, T., Kansara, P., y Li, P. (2022b). Neuroinflammation: A Distal Consequence of Periodontitis. *Journal of Dental*

Research, 101(12), 1441–1449.
<https://doi.org/10.1177/00220345221102084>

- Li, Y., Sun, M., Cao, F., Chen, Y., Zhang, L., y cols. (2022c). The Ferroptosis Inhibitor Liproxstatin-1 Ameliorates LPS-Induced Cognitive Impairment in Mice. *Nutrients*, 14(21), 4599. <https://doi.org/10.3390/nu14214599>
- Lijia, Z., Zhao, S., Wang, X., Wu, C., y Yang, J. (2012). A self-propelling cycle mediated by reactive oxide species and nitric oxide exists in LPS-activated microglia. *Neurochemistry International*, 61(7), 1220–1230. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.09.002>
- Liu, C., Zhang, C. W., Lo, S. Q., Ang, S. T., Chew, K. C. M., y cols. (2018). S-nitrosylation of divalent metal transporter 1 enhances iron uptake to mediate loss of dopaminergic neurons and motoric deficit. *Journal of Neuroscience*, 38(39), 8364–8377. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3262-17.2018>
- Liu, S., Butler, C. A., Ayton, S., Reynolds, E. C., y Dashper, S. G. (2023). Porphyromonas gingivalis and the pathogenesis of Alzheimer's disease. En *Critical Reviews in Microbiology*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2022.2163613>
- López, R. L., Smith, P. C., Göstemeyer, G., y Schwendicke, F. (2017). Ageing, dental caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 44, 145–152. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12683>
- Lucin, K. M., y Wyss-Coray, T. (2009). Immune Activation in Brain Aging and Neurodegeneration: Too Much or Too Little? En *Neuron* (Vol. 64, Número 1, pp. 110–122). <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.08.039>
- Lyra, P., Botelho, J., Machado, V., Rota, S., Walker, R., y cols. (2022). Self-reported periodontitis and C-reactive protein in Parkinson's disease: a cross-sectional study of two American cohorts. *npj Parkinson's Disease*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41531-022-00302-1>
- Lyra, P., Machado, V., Proença, L., Domingos, J., Godinho, C., y cols. (2020). Parkinson's disease, periodontitis and patient-related outcomes: A cross-

sectional study. *Medicina (Lithuania)*, 56(8), 1–11.
<https://doi.org/10.3390/medicina56080383>

Ma, J., Zhang, F. L., Zhou, G., Bao, Y. X., Shen, Y., y cols. (2018). Different Characteristics of Hepcidin Expression in IL-6+/+ and IL-6-/- Neurons and Astrocytes Treated with Lipopolysaccharides. *Neurochemical Research*, 43(8), 1624–1630. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2577-9>

Maher, P., Fischer, W., Liang, Z., Soriano-Castell, D., Pinto, A. F. M., y cols. (2020). The Value of Herbarium Collections to the Discovery of Novel Treatments for Alzheimer's Disease, a Case Made With the Genus *Eriodictyon*. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00208>

Mao, H., Zhao, Y., Li, H., y Lei, L. (2020). Ferroptosis as an emerging target in inflammatory diseases. En *Progress in Biophysics and Molecular Biology* (Vol. 155, pp. 20–28). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2020.04.001>

Mark, R. J., Lovell, M. A., Markesbery, W. R., Uchida, K., y Mattson, M. P. (1997). A role for 4-hydroxynonenal, an aldehydic product of lipid peroxidation, in disruption of ion homeostasis and neuronal death induced by amyloid β -peptide. *Journal of Neurochemistry*, 68(1), 255–264. <https://doi.org/10.1046/J.1471-4159.1997.68010255.X>

Masaldan, S., Bush, A. I., Devos, D., Rolland, A. S., y Moreau, C. (2019). Striking while the iron is hot: Iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration. En *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 133, pp. 221–233). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.033>

MINSAL. (2017). PLAN NACIONAL DE SALUD BUCAL 2018 – 2030. *Ministerio de Salud, Subsecretaría de Salud Pública, División de Prevención y Control de Enfermedades, Departamento de Salud Bucal*. https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2017/12/Plan-Nacional-Salud-Bucal-2018-2030-Consulta-Pública-20_12_2017.pdf

Monzio Compagnoni, G., Di Fonzo, A., Corti, S., Comi, G. P., Bresolin, N., y cols. (2020). The Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: the

Lesson from Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Molecular neurobiology*, 57(7), 2959–2980. <https://doi.org/10.1007/S12035-020-01926-1>

Moujalled, D., Strasser, A., y Liddell, J. R. (2021). Molecular mechanisms of cell death in neurological diseases. *Cell death and differentiation*, 28(7), 2029–2044. <https://doi.org/10.1038/S41418-021-00814-Y>

Murray, C. J. L., Barber, R. M., Foreman, K. J., Ozgoren, A. A., Abd-Allah, F., y cols. (2015). Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990–2013: quantifying the epidemiological transition. *The Lancet*, 386(10009), 2145–2191. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61340-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61340-X)

Nazir, M., Al-Ansari, A., Al-Khalifa, K., Alhareky, M., Gaffar, B., y cols. (2020). Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *Scientific World Journal*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2146160>

Nemeth, E., Tuttle, M. S., Powelson, J., Vaughn, M. D., Donovan, A., y cols. (2004). Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306(5704), 2090–2093. <https://doi.org/10.1126/science.1104742>

Nichols, E., Szoeke, C. E. I., Vollset, S. E., Abbasi, N., Abd-Allah, F., y cols. (2019). Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, 18(1), 88–106. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30403-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30403-4)

Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K., y Brayne, C. (2014). Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data. *The Lancet Neurology*, 13(8), 788–794. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70136-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70136-X)

Olsen, I. (2021). Porphyromonas Gingivalis May Seek the Alzheimer's Disease Brain to Acquire Iron from Its Surplus. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 5(1), 79–86. <https://doi.org/10.3233/ADR-200272>

- Olsen, I., Kell, D. B., y Pretorius, E. (2020). Is Porphyromonas gingivalis involved in Parkinson's disease? *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 39(11), 2013–2018. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03944-2/Published>
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., y cols. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. En *The BMJ* (Vol. 372). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
- Pan, S., Hu, B., Sun, J., Yang, Z., Yu, W., y cols. (2022). Identification of cross-talk pathways and ferroptosis-related genes in periodontitis and type 2 diabetes mellitus by bioinformatics analysis and experimental validation. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1015491>
- Pan, S., Li, Y., He, H., Cheng, S., Li, J., y cols. (2023). Identification of ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis-associated genes in periodontitis-affected human periodontal tissue using integrated bioinformatic analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1098851>
- Pan, W., Wang, Q., y Chen, Q. (2019). The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. En *International Journal of Oral Science* (Vol. 11, Número 3). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0064-z>
- Pandur, E., Varga, E., Tamási, K., Pap, R., Nagy, J., y cols. (2019). Effect of inflammatory mediators lipopolysaccharide and lipoteichoic acid on iron metabolism of differentiated SH-SY5Y cells alters in the presence of BV-2 microglia. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1). <https://doi.org/10.3390/ijms20010017>
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., y cols. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S173–S182. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721>

- Parra-Torres, V., Melgar-Rodríguez, S., Muñoz-Manríquez, C., Sanhueza, B., Cafferata, E. A., y cols. (2021). Periodontal bacteria in the brain—Implication for Alzheimer's disease: A systematic review. En *Oral Diseases*. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/odi.14054>
- Paula-Lima, A. C., Brito-Moreira, J., y Ferreira, S. T. (2013). Deregulation of excitatory neurotransmission underlying synapse failure in Alzheimer's disease. En *Journal of Neurochemistry* (Vol. 126, Número 2, pp. 191–202). <https://doi.org/10.1111/jnc.12304>
- Poole, S., Singhrao, S. K., Kesavalu, L., Curtis, M. A., y Crean, S. J. (2013). Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue. *Journal of Alzheimer's Disease*, 36(4), 665–677. <https://doi.org/10.3233/JAD-121918>
- Praticò, D., y Sung, S. (2004). Lipid peroxidation and oxidative imbalance: early functional events in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 6(2), 171–175. <https://doi.org/10.3233/JAD-2004-6209>
- Pussinen, P. J., Kopra, E., Pietiäinen, M., Lehto, M., Zaric, S., y cols. (2022). Periodontitis and cardiometabolic disorders: The role of lipopolysaccharide and endotoxemia. En *Periodontology 2000* (Vol. 89, Número 1, pp. 19–40). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/prd.12433>
- Qian, X., Zhang, S., Duan, L., Yang, F., Zhang, K., y cols. (2021). Periodontitis Deteriorates Cognitive Function and Impairs Neurons and Glia in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 79(4), 1785–1800. <https://doi.org/10.3233/JAD-201007>
- Qian, Z. M., He, X., Liang, T., Wu, K. C., Yan, Y. C., y cols. (2014). Lipopolysaccharides Upregulate Hecpidin in Neuron via Microglia and the IL-6/STAT3 Signaling Pathway. *Molecular Neurobiology*, 50(3), 811–820. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8671-3>
- Qian, Z. M., y Ke, Y. (2019). Brain iron transport. *Biological Reviews*, 94(5), 1672–1684. <https://doi.org/10.1111/brv.12521>

- Qian, Z. M., y Ke, Y. (2020). Hecpidin and its therapeutic potential in neurodegenerative disorders. En *Medicinal Research Reviews* (Vol. 40, Número 2, pp. 633–653). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/med.21631>
- Qiang, Z., Dong, H., Xia, Y., Chai, D., Hu, R., y cols. (2020). Nrf2 and STAT3 Alleviates Ferroptosis-Mediated IIR-ALI by Regulating SLC7A11. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5146982>
- Qiao, S., Li, B., Cai, Q., Li, Z., Yin, Z., y cols. (2022). Involvement of ferroptosis in Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-stimulated periodontitis in vitro and in vivo. *Oral Diseases*. <https://doi.org/10.1111/odi.14292>
- Qu, Z., Sun, J., Zhang, W., Yu, J., y Zhuang, C. (2020). Transcription factor NRF2 as a promising therapeutic target for Alzheimer's disease. En *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 159, pp. 87–102). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.028>
- Raha, A. A., Vaishnav, R. A., Friedland, R. P., Bomford, A., y Raha-Chowdhury, R. (2014). The systemic iron-regulatory proteins hepcidin and ferroportin are reduced in the brain in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-55>
- Ray Dorsey, E., Elbaz, A., Nichols, E., Abd-Allah, F., Abdelalim, A., y cols. (2018). Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, 17(11), 939–953. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30295-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30295-3)
- Reed, T. T., Pierce, W. M., Markesbery, W. R., y Butterfield, D. A. (2009). Proteomic identification of HNE-bound proteins in early Alzheimer disease: Insights into the role of lipid peroxidation in the progression of AD. *Brain Research*, 1274, 66–76. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2009.04.009>
- Schromm, A. B., Brandenburg, K., Loppnow, H., Moran, A. P., Koch, M. H. J., y cols. (2000). Biological activities of lipopolysaccharides are determined by

the shape of their lipid A portion. *European journal of biochemistry*, 267(7), 2008–2013. <https://doi.org/10.1046/J.1432-1327.2000.01204.X>

Seiler, A., Schneider, M., Förster, H., Roth, S., Wirth, E. K., y cols. (2008). Glutathione Peroxidase 4 Senses and Translates Oxidative Stress into 12/15-Lipoxygenase Dependent- and AIF-Mediated Cell Death. *Cell Metabolism*, 8(3), 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.005>

Sharma, N., y Nehru, B. (2018). Curcumin affords neuroprotection and inhibits α -synuclein aggregation in lipopolysaccharide-induced Parkinson's disease model. *Inflammopharmacology*, 26(2), 349–360. <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0402-8>

Shi, C. K., y Chen, Z. Q. (2017). Effect of microglia on iron metabolism in midbrain dopaminergic neurons and the underlying mechanism: Study protocol for an in vitro cellular experiment. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 21(8), 1262–1267. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2017.08.020>

Shi, Z., Zhang, L., Zheng, J., Sun, H., y Shao, C. (2021). Ferroptosis: Biochemistry and Biology in Cancers. *Frontiers in oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.579286>

Shin, J. A., Kim, H. S., Lee Kang, J., y Park, E. M. (2020). Estrogen deficiency is associated with brain iron deposition via upregulation of hepcidin expression in aged female mice. *Neurobiology of Aging*, 96, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2020.08.010>

Smith, M. A., Zhu, X., Tabaton, M., Liu, G., McKeel, D. W., y cols. (2010). Increased iron and free radical generation in preclinical Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19(1), 353–372. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1239>

Song, X., y Long, D. (2020). Nrf2 and Ferroptosis: A New Research Direction for Neurodegenerative Diseases. En *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00267>

- Stockwell, B. R., Friedmann Angeli, J. P., Bayir, H., Bush, A. I., Conrad, M., y cols. (2017). Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell*, 171(2), 273–285. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.09.021>
- Tang, D., y Kroemer, G. (2020). Ferroptosis. *Current Biology*, 30(21), R1292–R1297. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.068>
- Tang, M., Chen, Z., Wu, D., y Chen, L. (2018). Ferritinophagy/ferroptosis: Iron-related newcomers in human diseases. *Journal of cellular physiology*, 233(12), 9179–9190. <https://doi.org/10.1002/JCP.26954>
- Teixeira, F. B., Saito, M. T., Matheus, F. C., Prediger, R. D., Yamada, E. S., y cols. (2017). Periodontitis and alzheimer's disease: A possible comorbidity between oral chronic inflammatory condition and neuroinflammation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9(OCT). <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00327>
- Thirupathi, A., y Chang, Y. Z. (2019). Brain iron metabolism and CNS diseases. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1173, 1–19. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9589-5_1/COVER
- Tripathi, A. K., Karmakar, S., Asthana, A., Ashok, A., Desai, V., y cols. (2017). Transport of Non-Transferrin Bound Iron to the Brain: Implications for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 58(4), 1109–1119. <https://doi.org/10.3233/JAD-170097>
- Urrutia, P. J., Aguirre, P., Esparza, A., Tapia, V., Mena, N. P., y cols. (2013). Inflammation alters the expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells. *Journal of Neurochemistry*, 126(4), 541–549. <https://doi.org/10.1111/jnc.12244>
- Urrutia, P. J., Bórquez, D. A., y Núñez, M. T. (2021). Inflaming the brain with iron. En *Antioxidants* (Vol. 10, Número 1, pp. 1–27). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox10010061>
- Urrutia, P. J., Hirsch, E. C., González-Billault, C., y Núñez, M. T. (2017). Hepcidin attenuates amyloid beta-induced inflammatory and pro-oxidant responses in

astrocytes and microglia. *Journal of Neurochemistry*, 142(1), 140–152.
<https://doi.org/10.1111/jnc.14005>

Urrutia, P. J., Mena, N. P., y Núñez, M. T. (2014). The interplay between iron accumulation, mitochondrial dysfunction, and inflammation during the execution step of neurodegenerative disorders. En *Frontiers in Pharmacology: Vol. 5 MAR*. Frontiers Media SA.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00038>

van Vuuren, M. J., Nell, T. A., Carr, J. A., Kell, D. B., y Pretorius, E. (2021). Iron dysregulation and inflammagens related to oral and gut health are central to the development of parkinson's disease. En *Biomolecules* (Vol. 11, Número 1, pp. 1–27). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom11010030>

Vernal, R., Leon, R., Herrera, D., Garcia-Sanz, J. A., Silva, A., y cols. (2008). Variability in the response of human dendritic cells stimulated with porphyromonas gingivalis or aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Journal of Periodontal Research*, 43(6), 689–697.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01073.x>

Wang, C., Chen, S., Guo, H., Jiang, H., Liu, H., y cols. (2022a). Forsythoside A Mitigates Alzheimer's-like Pathology by Inhibiting Ferroptosis-mediated Neuroinflammation via Nrf2/GPX4 Axis Activation. *International Journal of Biological Sciences*, 18(5), 2075–2090. <https://doi.org/10.7150/ijbs.69714>

Wang, F., Wang, J., Shen, Y., Li, H., Rausch, W. D., y cols. (2022b). Iron Dyshomeostasis and Ferroptosis: A New Alzheimer's Disease Hypothesis? En *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.830569>

Wang, H., Liu, C., Zhao, Y., y Gao, G. (2020). Mitochondria regulation in ferroptosis. *European journal of cell biology*, 99(1).
<https://doi.org/10.1016/J.EJCB.2019.151058>

Wang, J., Song, N., Jiang, H., Wang, J., y Xie, J. (2013). Pro-inflammatory cytokines modulate iron regulatory protein 1 expression and iron transportation through reactive oxygen/nitrogen species production in ventral

mesencephalic neurons. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1832(5), 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.01.021>

Wang, Q., Du, F., Qian, Z. M., Xiao, H. G., Zhu, L., y cols. (2008). Lipopolysaccharide induces a significant increase in expression of iron regulatory hormone hepcidin in the cortex and substantia nigra in rat brain. *Endocrinology*, 149(8), 3920–3925. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1626>

Wang, S. M., Fu, L. J., Duan, X. L., Crooks, D. R., Yu, P., y cols. (2010). Role of hepcidin in murine brain iron metabolism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(1), 123–133. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0167-3>

Wang, X., Shi, N., Wu, B., Yuan, L., Chen, J., y cols. (2022c). Bioinformatics analysis of gene expression profile and functional analysis in periodontitis and Parkinson's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.1029637>

Ward, R. J., Zucca, F. A., Duyn, J. H., Crichton, R. R., y Zecca, L. (2014). The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. En *The Lancet Neurology* (Vol. 13, Número 10, pp. 1045–1060). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70117-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70117-6)

Wu, Y., Dong, G., Xiao, W., Xiao, E., Miao, F., y cols. (2016). Effect of Aging on Periodontal Inflammation, Microbial Colonization, and Disease Susceptibility. *Journal of Dental Research*, 95(4), 460. <https://doi.org/10.1177/0022034515625962>

Xu, W., Zhou, W., Wang, H., y Liang, S. (2020). Roles of Porphyromonas gingivalis and its virulence factors in periodontitis. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 120, 45–84. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.12.001>

Xu, Z., Tan, R., Li, X., Pan, L., Ji, P., y cols. (2023). Development of a classification model and an immune-related network based on ferroptosis in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. <https://doi.org/10.1111/jre.13100>

- Xue, L., Zou, X., Yang, X. Q., Peng, F., Yu, D. K., y cols. (2020). Chronic periodontitis induces microbiota-gut-brain axis disorders and cognitive impairment in mice. *Experimental Neurology*, 326. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113176>
- Yan, N., y Zhang, J. J. (2020). Iron Metabolism, Ferroptosis, and the Links With Alzheimer's Disease. En *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01443>
- Yang, W. S., Sriramaratnam, R., Welsch, M. E., Shimada, K., Skouta, R., y cols. (2014). Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 156(1–2), 317–331. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2013.12.010>
- Yang, W. S., y Stockwell, B. R. (2016). Ferroptosis: Death by Lipid Peroxidation. En *Trends in Cell Biology* (Vol. 26, Número 3, pp. 165–176). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.10.014>
- Yang, W. Y., Meng, X., Wang, Y. R., Wang, Q. Q., He, X., y cols. (2022). PRDX6 alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation and ferroptosis in periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 80(7), 535–546. <https://doi.org/10.1080/00016357.2022.2047780>
- Yauger, Y. J., Bermudez, S., Moritz, K. E., Glaser, E., Stoica, B., y cols. (2019). Iron accentuated reactive oxygen species release by NADPH oxidase in activated microglia contributes to oxidative stress in vitro. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1430-7>
- You, L. H., Yan, C. Z., Zheng, B. J., Ci, Y. Z., Chang, S. Y., y cols. (2017). Astrocyte hepcidin is a key factor in Lps-induced neuronal apoptosis. *Cell Death and Disease*, 8(3). <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.93>
- Yuan, H., Pratte, J., y Giardina, C. (2021). Ferroptosis and its potential as a therapeutic target. *Biochemical pharmacology*, 186. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2021.114486>
- Zamyatina, A., y Heine, H. (2020). Lipopolysaccharide Recognition in the Crossroads of TLR4 and Caspase-4/11 Mediated Inflammatory Pathways.

En *Frontiers in Immunology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.585146>

Zechel, S., Huber-Wittmer, K., y Von Halbach, O. B. (2006). Distribution of the iron-regulating protein hepcidin in the murine central nervous system. *Journal of Neuroscience Research*, 84(4), 790–800.
<https://doi.org/10.1002/jnr.20991>

Zeng, X., Zhang, Y., Kwong, J. S. W., Zhang, C., Li, S., y cols. (2015). The methodological quality assessment tools for preclinical and clinical studies, systematic review and meta-analysis, and clinical practice guideline: A systematic review. En *Journal of Evidence-Based Medicine* (Vol. 8, Número 1, pp. 2–10). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1111/jebm.12141>

Zhang, C., Xue, P., Ke, J., y Cai, Q. (2022a). Development of Ferroptosis-Associated ceRNA Network in Periodontitis. *International Dental Journal*.
<https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.05.004>

Zhang, F. L., Hou, H. M., Yin, Z. N., Chang, L., Li, F. M., y cols. (2017). Impairment of hepcidin upregulation by lipopolysaccharide in the interleukin-6 knockout mouse brain. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00367>

Zhang, J., Stanton, D. M., Nguyen, X. V., Liu, M., Zhang, Z., y cols. (2005). Intrapallidal lipopolysaccharide injection increases iron and ferritin levels in glia of the rat substantia nigra and induces locomotor deficits. *Neuroscience*, 135(3), 829–838. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.06.049>

Zhang, J., Yu, C., Zhang, X., Chen, H., Dong, J., y cols. (2018). Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1).
<https://doi.org/10.1186/s12974-017-1052-x>

Zhang, P., Chen, L., Zhao, Q., Du, X., Bi, M., y cols. (2020). Ferroptosis was more initial in cell death caused by iron overload and its underlying mechanism in Parkinson's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 152, 227–234.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.03.015>

- Zhang, S., Jin, H., Da, J., Zhang, K., Liu, L., y cols. (2022b). Role of ferroptosis-related genes in periodontitis based on integrated bioinformatics analysis. *PLoS ONE*, 17(7 July). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271202>
- Zhang, X. Y., Cao, J. B., Zhang, L. M., Li, Y. F., y Mi, W. D. (2015). Deferoxamine attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment in mice. *Journal of Neuroinflammation*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0238-3>
- Zhang, Z., Hou, L., Song, J. L., Song, N., Sun, Y. J., y cols. (2014). Pro-inflammatory cytokine-mediated ferroportin down-regulation contributes to the nigral iron accumulation in lipopolysaccharide-induced Parkinsonian models. *Neuroscience*, 257, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.09.037>
- Zhang, Z., Zhang, K., Du, X., y Li, Y. (2012). Neuroprotection of desferrioxamine in lipopolysaccharide-induced nigrostriatal dopamine neuron degeneration. *Molecular Medicine Reports*, 5(2), 562–566. <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.671>
- Zhao, J., Bi, W., Xiao, S., Lan, X., Cheng, X., y cols. (2019). Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8>
- Zhao, Y., Li, J., Guo, W., Li, H., y Lei, L. (2020). Periodontitis-level butyrate-induced ferroptosis in periodontal ligament fibroblasts by activation of ferritinophagy. *Cell Death Discovery*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41420-020-00356-1>
- Zhu, H., Santo, A., Jia, Z., y Li, Y. R. (2019). GPx4 in Bacterial Infection and Polymicrobial Sepsis: Involvement of Ferroptosis and Pyroptosis. *Reactive oxygen species (Apex, N.C.)*, 7(21), 154. <https://doi.org/10.20455/ROS.2019.835>
- Zindel, J., y Kubes, P. (2020). DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol*, 493–518. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847>

Zhang y cols., 2005													
Zhang y cols., 2012													DFO
Zhang y cols., 2014													Salicilato de sodio
Zhang y cols., 2015													DFO
Zhang y cols., 2017													
APAP: Acetaminofén; DFO: Deferoxamina; DMT1: Transportador de Metales Divalentes 1; L-NAME: N-Nitro-L-arginina metiléster													
Demostrado													
No Demostrado													